



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**  
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**  
POSTGRADO DE FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGÍA

**COMPORTAMIENTO DE CINCO CULTIVARES  
DE MANGO (*Mangifera indica* L.) A LA  
INFECCIÓN POR *Fusarium subglutinans* Y *F.*  
*mexicanum***

**ELVIS GARCÍA LÓPEZ**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2016

La presente tesis titulada: **Comportamiento de cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) a la infección por *Fusarium subglutinans* y *F. mexicanum***, realizada por el alumno **Elvis García López**, con la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

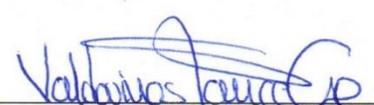
**DOCTOR EN CIENCIAS**

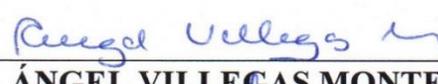
**FITOSANIDAD - FITOPATOLOGÍA**

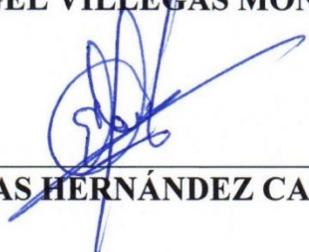
**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO:   
\_\_\_\_\_  
**DR. JOSÉ ANTONIO MORA AGUILERA**

ASESOR:   
\_\_\_\_\_  
**DR. DANIEL TÉLIZ ORTIZ**

ASESOR:   
\_\_\_\_\_  
**DRA. GUADALUPE VALDOVINOS PONCE**

ASESOR:   
\_\_\_\_\_  
**DR. ÁNGEL VILLEGAS MONTER**

ASESOR:   
\_\_\_\_\_  
**DR. ELÍAS HERNÁNDEZ CASTRO**

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Noviembre de 2016.

# COMPORTAMIENTO DE CINCO CULTIVARES DE MANGO (*Mangifera indica* L.) A LA INFECCIÓN POR *Fusarium subglutinans* Y *F. mexicanum*.

Elvis García López, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2016

## RESUMEN

La malformación vegetativa y floral, causada por *Fusarium* spp., es una de las enfermedades limitativas de la producción de mango en México y el mundo. En huertos comerciales, los daños son mayores en los cultivares monoembriónicos que en los poliembriónicos y el manejo sanitario incrementa los costos de producción. En este estudio, se evaluó la tolerancia de cultivares de importancia económica nacional ('Ataúlfo' y 'Haden') y de introducción reciente ('Mallika', 'Nam Doc Mai' y 'Rosigold') a la infección por *F. subglutinans* (Fs) y *F. mexicanum* (Fm). Asimismo, se documentaron las concentraciones de mangiferina, y ácidos clorogénico, gálico, ferúlico, cafeico y p-hidroxibenzoico como posibles compuestos involucrados en la defensa contra Fs y Fm. Para evaluar la tolerancia varietal, plantas juveniles de vivero se inocularon con Fs y Fm por infiltración de 100  $\mu\text{L}$  de una suspensión conidial ( $2 \times 10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ ) en las yemas apicales y tres subapicales, con un diseño experimental de parcelas divididas, donde la parcela principal fueron los cultivares y las subparcelas los tratamientos de inoculación (aislados de *Fusarium*, infiltrados solos y combinados, y el control a base de agua destilada estéril). Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones y la unidad experimental fue una planta. De acuerdo al índice de severidad de la enfermedad (ISE), 'Ataúlfo' fue tolerante, 'Nam Doc Mai' y 'Rosigold' susceptibles; mientras que, 'Mallika' y 'Haden' fueron altamente susceptibles. Consistentemente, 'Ataúlfo' mostró menor ISE= 3.6%, severidad final ( $y_f= 0.6$ ), tasa de infección ( $b^{-1}= 0.039$ ) e intensidad de la enfermedad (ABCPE= 0.53) ( $P \leq 0.05$ ). La combinación de aislamientos indujo mayor incidencia y severidad (Inc= 72%, ISE= 30.8%), que inoculados individualmente: Fs (Inc= 52%, ISE= 19.2%) y Fm (Inc= 44%, ISE= 15.6%) ( $P \leq 0.05$ ). Las concentraciones y fluctuación de mangiferina y ácidos fenólicos fueron variables según el cultivar. 'Ataúlfo', 'Nam Doc Mai' y 'Rosigold' tuvieron incremento rápido de la mangiferina y ácidos clorogénico y gálico en los primeros siete días después de inoculación; además, 'Ataúlfo' presentó el mayor contenido de mangiferina y ácidos clorogénico, cafeico, ferúlico y p-hidroxibenzoico (27.74, 1.564, 0.209, 0.347 y 0.214  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco). *In vitro*, la mangiferina inhibió el crecimiento micelial de Fs y Fm con una concentración efectiva media de 747.54  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

**Palabras clave:** *Mangifera indica*, *Fusarium*, severidad, ácidos fenólicos, mangiferina

**BEHAVIOR OF FIVE MANGO (*Mangifera indica* L.) CULTIVARS TO INFECTION BY  
*Fusarium subglutinans* AND *F. mexicanum*.**

**Elvis García López, Dr.**

**Colegio de Postgraduados, 2016**

**ABSTRACT**

Vegetative and floral malformation, caused by *Fusarium* spp., is one of the limiting diseases of mango production in Mexico and the world. In commercial orchards, the damages are higher in monoembryonic cultivars than in polyembryonic cultivars and sanitary management increases production costs. In this study, the tolerance of national economic importance cultivars ('Ataúlfo' and 'Haden') and recently introduced ('Mallika', 'Nam Doc Mai' and 'Rosigold') was evaluate to infection by *F. subglutinans* (Fs) and *F. mexicanum* (Fm). In addition, concentrations of mangiferin and chlorogenic, gallic, ferulic, caffeic and p-hydroxybenzoic acids were documented as possible compounds involved in the defense against Fs and Fm. To evaluate varietal tolerance, young seedlings were inoculated with Fs and Fm by infiltration of 100  $\mu$ L of a conidial suspension ( $2 \times 10^6$  conidias  $\text{mL}^{-1}$ ) in the apical and three subapical buds, with an experimental split plot design, where the main plot were cultivars and subplots inoculation treatments (*Fusarium* isolates, infiltrated alone and combined, and control based sterile distilled water). Each treatment had five replicates and the experimental unit was plant. According to the Disease Severity Index (DSI), 'Ataulfo' was tolerant, 'Nam Doc Mai' and 'Rosigold' susceptible, whereas, 'Mallika' and 'Haden' were highly susceptible. Consistently, 'Ataulfo' showed lower DSI= 3.6%, final severity ( $y_f= 0.6$ ), infection rate ( $b^{-1}= 0.039$ ) and disease intensity (AUDPC= 0.53) ( $P \leq 0.05$ ). The combination of isolates induced higher incidence and severity (Inc= 72%, DSI= 30.8%) than individually inoculated: Fs (Inc= 52%, DSI= 19.2%) and Fm (Inc= 44%, DSI= 15.6%) ( $P \leq 0.05$ ). The concentrations and fluctuation of mangiferin and phenolic acids were variable depending on the cultivar. 'Ataulfo', 'Nam Doc Mai' and 'Rosigold' had a rapid increase of mangiferin, and chlorogenic and gallic acids in the first seven days after inoculation; addition, 'Ataúlfo' presented the highest content of mangiferin and chlorogenic, caffeic, ferulic and p-hydroxybenzoic acids (27.74, 1.564, 0.209, 0.347 and 0.214  $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight). *In vitro*, mangiferin inhibited mycelial growth of Fs and Fm with an average effective concentration of 747.54  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

**Key words:** *Mangifera indica*, *Fusarium*, severity, phenolic acids, mangiferin

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero para la realización de mis estudios de postgrado.

Al Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT por el financiamiento parcial a través del proyecto 48595.

Al Colegio de Postgraduados por el financiamiento a proyectos de investigación para tesis mediante el Fideicomiso 167304.

Al Dr. José Antonio Mora Aguilera por la confianza, paciencia y ser un apoyo constante durante mi formación académica, así como en la realización, culminación y publicación de la presente investigación.

Al Dr. Daniel Téliz Ortiz, Dr. Ángel Villegas Monter, Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce y Dr. Elías Hernández Castro por el apoyo, consejos, orientación, sugerencias y amplia disposición tanto en la realización de la presente investigación como en mi formación.

Al Dr. Cristian Nava Díaz por el incondicional apoyo que siempre me brindo.

A los profesores del Programa en Fitopatología por compartir sus conocimientos, tiempo y experiencia para mi formación académica.

Al Dr. Marco Soto, MC Rubén San Miguel Chávez, Sr. Domingo Méraz por la asesoría y facilidades prestadas en laboratorio de Fitoquímica del CP.

Al Dr. Colmar Serra, MC Cándida Milady Batista Marte, Ing. Ramón Arbona, MC Salomón Sosa y personal de la Estación Experimental de Frutales Baní, por la disponibilidad y apoyos brindados durante mi estancia en República Dominicana.

A Elvia Rosas por la amistad y apoyo en laboratorio de Enfermedades de Frutales del CP.

A Justino Niño y Raúl Acevedo por la amistad, disponibilidad y apoyo en la fase de campo en Huamuxtitlán, Guerrero.

A Verónica, Hilda, Erika y personal administrativo por la amable atención y apoyo en los diversos trámites realizados en el posgrado de Fitosanidad.

A mis amigos y compañeros Juan Manuel, Leticia, Moisés, Berenice, José Guadalupe, Edgar, Alma, Jaime, Elizabeth, Luis Alfonso, Jorge, Santiago, Dagoberto<sup>†</sup> y equipos de Fútbol Genética y Real Genética por los momentos compartidos y a las demás personas que de una u otra forma hicieron agradable mi estancia en CP.

**Dedicó esta tesis con amor y cariño:**

**A mi esposa: Maricela Cruz C.**

**A mis hijos: Angelito, María Fernanda y Gabriela Sarai**

**A mis padres: Olivia López y Serafín García**

**A mi hermana: Anadel**

**A mi abuela: Manuela Jiménez**

**A mis ángeles: Cirilo López<sup>†</sup>, Miguel García<sup>†</sup>**

**A toda mi familia**

**ELVIS**

## CONTENIDO

	Pág.
<b>RESUMEN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	<b>ix</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>x</b>
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	<b>1</b>
Hipótesis.....	5
Objetivos.....	5
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>6</b>
Referencias.....	17
<b>CAPITULO I. TOLERANCIA DE CINCO CULTIVARES DE MANGO (<i>Mangifera indica</i> L.) A <i>Fusarium subglutinans</i> Y <i>F. mexicanum</i> EN MÉXICO</b>	
Resumen.....	26
Abstract.....	27
Introducción.....	28
Materiales y Métodos.....	30
Resultados.....	34
Discusión.....	41
Referencias.....	44
<b>CAPITULO II. TOLERANCIA DE CINCO CULTIVARES DE MANGO A <i>Fusarium</i> spp. ASOCIADA A MANGIFERINA Y ÁCIDOS FENÓLICOS</b>	
Resumen.....	48
Abstract.....	49
Introducción.....	50
Materiales y Métodos.....	51
Resultados.....	55
Discusión.....	60
Referencias.....	63

**DISCUSIÓN GENERAL..... 68**  
**CONCLUSIONES FINALES..... 71**

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
<b>CAPITULO I</b>	
<b>Tabla 1.</b> Escala de severidad para evaluación de la malformación vegetativa ( <i>Fusarium</i> spp.) del mango ( <i>Mangifera indica</i> L.).....	32
<b>Tabla 2.</b> Índice de severidad, incidencia y periodo de incubación de plantas inoculadas con <i>Fusarium subglutinans</i> y <i>F. mexicanum</i> en cinco cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.....	36
<b>Tabla 3.</b> Análisis de parámetros epidemiológicos de las curvas del progreso de incidencia y severidad de la malformación vegetativa en cinco cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) inoculados con <i>Fusarium</i> spp. Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015. ....	37
<b>Tabla 4.</b> Promedio del número de hojas del último flujo de crecimiento en plantas inoculadas con <i>Fusarium</i> spp., en cinco cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.....	38
<b>Tabla 5.</b> Promedio de la longitud del último flujo de crecimiento en planta inoculadas con <i>Fusarium</i> spp., en cinco cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.....	38
<b>Tabla 6.</b> Incidencia de malformación vegetativa y floral ( <i>Fusarium</i> spp.) en huertos comerciales de mango cvs. ‘Ataúlfo’ y ‘Haden’. Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2016. ....	40
<b>CAPITULO II</b>	
<b>Tabla 1.</b> Periodos de incubación, índice de severidad e incidencia de malformación vegetativa en cinco cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) inoculados con <i>Fusarium subglutinans</i> y <i>F. mexicanum</i> , Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015	55
<b>Tabla 2.</b> Concentración de mangiferina y cinco ácidos fenólicos de hojas maduras de cinco cultivares de mango inoculados con <i>Fusarium</i> spp. Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015. ....	59
<b>Tabla 3.</b> Efecto inhibitorio de la mangiferina en el crecimiento micelial de <i>Fusarium subglutinans</i> y <i>F. mexicanum</i> <i>in vitro</i> .....	59

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>CAPITULO I</b>	
<b>Figura 1.</b> Síntomas y nivel de daño de la malformación vegetativa ( <i>Fusarium subglutinans</i> y <i>F. mexicanum</i> ) en cinco cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.). Brote sano con dominancia apical (a); brotes con síntomas: yema hinchada (yh), engrosamiento de la base del tallo (et), proliferación excesiva (pe). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.....	35
<b>Figura 2.</b> Progreso temporal no acumulado de la severidad media en plantas de mango inoculadas con <i>Fusarium subglutinans</i> , <i>F. mexicanum</i> y la combinación en cinco cultivares de mango. PI: Periodo de incubación promedio/cultivar; 1-9: Fecha de evaluación cada 35 días. Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.....	37
<b>Figura 3.</b> Relación longitud del brote con el índice de severidad en plantas de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) inoculados con <i>Fusarium</i> spp. Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.....	39
<b>Figura 4.</b> Árboles de mango cvs. ‘Haden’ (Ha) y ‘Ataúlfo’ (At), en huertos comerciales, con síntomas de malformación floral ( <i>Fusarium</i> spp.), en Huamuxtitlán, Guerrero, México. 2016.....	40
<b>CAPITULO II</b>	
<b>Figura 1.</b> Síntomas de malformación vegetativa en cinco cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.). En vista horizontal: ‘Ataúlfo’ (A-D) (tolerante); ‘Rosigold’ (E-H) y ‘Nam Doc Mai’ (I-L) (susceptibles); ‘Mallika’ (M-P) y ‘Haden’ (Q-T) (altamente susceptibles). En vista vertical: Inoculados con <i>Fusarium subglutinans</i> (B, F, J, N y R), <i>F. mexicanum</i> (C, G, K, O y S) y la combinación de aislados (D, H, L, P y T). Control agua destilada estéril (A, E, I, M y Q). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.....	56
<b>Figura 2.</b> Concentración estacional media de mangiferina y cinco ácidos fenólicos en cultivares de mango inoculados con <i>Fusarium subglutinans</i> , <i>F. mexicanum</i> y la combinación. Fechas de evaluación: 1 (antes de la inoculación), 2 (7 días después de inoculación: ddi), 3 (35 ddi), 4 (125 ddi), 5 (300 ddi). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.....	58

## INTRODUCCIÓN GENERAL

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los frutales de mayor importancia económica en las regiones tropicales y subtropicales del mundo; en el ámbito internacional ocupa el sexto lugar en producción después del banano, plátano, manzana, uva y naranja. México representa el cuarto productor a escala mundial con 198,883 has y el primer lugar en exportación (20.52%) (FAOSTAT, 2016). La producción se concentra en los estados de Guerrero, Chiapas, Nayarit, Oaxaca, Michoacán, Sinaloa, Veracruz, Jalisco, Colima y Campeche. Los principales cultivares que se producen son ‘Ataúlfo’ (26%), ‘Manila’ (18%), ‘Tommy Atkins’ (13%), ‘Haden’ (13%), ‘Kent’ (12%) y ‘Keitt’ (5%) (SIAP-SAGARPA, 2016). Los problemas tecnológicos relevantes que tiene este cultivo son: árboles de porte alto, baja densidad de plantación, estacionalidad de la producción en el periodo mayo-julio, no hay viveros certificados que garanticen el origen genético y calidad sanitaria del material propagativo (Villegas y Mora, 2011), así como manejo sanitario deficiente en huertos comerciales. El mercado internacional de cultivares amarillos se encuentra en expansión. En México el único cultivar amarillo que se exporta es ‘Ataúlfo’ (Infante *et al.*, 2011). Con el propósito de diversificar este mercado lucrativo, en 2011 y 2012, investigadores del Colegio de Postgraduados introdujeron a México los cvs. ‘Mallika’, ‘Ivory’, ‘Rosigold’, ‘Nam Doc Mai’, ‘Fairchild’, ‘Neelum’, ‘Alphonse’ y ‘Kesar’, procedentes del Fairchild Tropical Botanic Garden, Florida, EE.UU. Actualmente se evalúa el comportamiento agronómico y fitosanitario de estos materiales a las principales plagas de importancia económica en México (Comunicación personal<sup>1</sup>).

La malformación vegetativa y floral (MVF), también conocida como bunchy top, ‘escoba de bruja’ o proliferación vegetativa o floral es de las enfermedades de mayor severidad en las regiones

---

<sup>1</sup> Dr. J. Antonio Mora A. Profesor investigador del Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, México (aguilera@colpos.mx).

de clima semi-árido y de trópico seco (Ploetz, 2001). El agente causal afecta brotes vegetativos y florales. Los síntomas en brotes vegetativos consisten en pérdida de dominancia apical, proliferación de yemas laterales con entrenudos cortos, hojas pequeñas, quebradizas y angostas. Las inflorescencias presentan ejes primarios y secundarios muy ramificados, acortados y engrosados, el número de flores masculinas se incrementa significativamente y son más grandes que las sanas, las flores hermafroditas son estériles, o si se fecundan, posteriormente abortan (Kumar *et al.*, 1993; Ploetz, 2003). La enfermedad es compleja y se observa en plantas de cualquier edad en huertos comerciales y viveros. En México, la enfermedad se registró por primera vez en 1958 (Chávez *et al.*, 2001); a la fecha se ha extendido a la mayoría de los estados productores de las regiones del Golfo y Pacífico mexicano, mostrando mayor severidad entre 200 y 700 m de altitud (Espinosa *et al.*, 2007). La MVF es causada por *Fusarium mangiferae*, *F. sterilihyphosum*, *F. mexicanum*, *F. tupaense*, *F. proliferatum* (Freeman *et al.*, 2014b) y *F. pseudocircinatum* (Freeman *et al.*, 2014a; García *et al.*, 2016). En México se ha reportado a *F. subglutinans* y *F. oxysporum* en los estados de Michoacán, Guerrero y Morelos (Noriega *et al.*, 1999; Mora *et al.*, 2003), *F. mexicanum* en Jalisco, Michoacán y Guerrero (Soto *et al.*, 2015) y *F. pseudocircinatum* en Guerrero, Campeche y Chiapas (Freeman *et al.*, 2014a). Los daños en los cultivares monoembriónicos ('Haden', 'Tommy Atkins' y 'Kent') y tipos criollo son mayores en la cuenca del Pacífico, donde reduce los rendimientos hasta 40-50% (Vega y Miranda, 1993; Noriega *et al.*, 1999).

Para estimar la tolerancia de árboles de mango infectados por *Fusarium* spp., se han propuesto distintos métodos de evaluación. Kumar y Beniwal (1992), plantean fórmulas para evaluar la incidencia ( $DI = N1/N2$ ) y severidad [ $DS = (D1+D2/T1+T2) \times 100$ ] con escala de nueve grados (1= resistente, 3= moderadamente resistente, 5= tolerante, 7= moderadamente susceptible; 9=

susceptible); mientras que, Iqbal *et al.* (2006), proponen cinco niveles para evaluar plantas juveniles inoculadas con *F. mangiferae*. Sin embargo, en la mayoría de los casos, estas escalas deben ajustarse para alcanzar mayor precisión, ya que factores como temperatura, edad, periodo de evaluación e interacción patógeno-hospedante, entre otros, pueden influir en la severidad y patrón de síntomas en las distintas regiones productoras de mango (Kumar *et al.*, 2011; Chakraborti y Kumar, 2014).

En el ámbito internacional, los cvs. ‘Elaichi’, ‘Bhadauran’, ‘Rumani’, ‘Alfa’ y ‘Beta’ se reportan como ‘inmunes’ a la MVF; mientras que, ‘Mallika’, ‘Neelum’, ‘Chausa’, ‘Dashehari’, ‘Bombay’, ‘Langra’, ‘Tommy Atkins’ y ‘Haden’ han mostrado variación en susceptibilidad y los clasificaron como susceptibles o altamente susceptibles (Dias *et al.*, 2003; Mora *et al.*, 2003; Pinto *et al.*, 2004; Zaccaro *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2011; Singh *et al.*, 2012; Chad *et al.*, 2013; Chakraborti y Kumar, 2014). Krishnan *et al.* (2009), clasificaron a 25 cultivares de mango en cinco categorías con base en parámetros bioquímicos como contenido fenólico y actividad de la polifenol oxidasa: ‘Bhadauran’ (altamente resistentes), ‘Dashehari’, ‘Langra’, ‘Kurukkan’ y ‘Fazli’ (moderadamente resistentes), ‘Sensation’, ‘Eldon’, ‘Rataul’, ‘Mallika’ y ‘Alphonse’ (susceptibles), ‘H-31-1’, ‘Lalsundri’, ‘Totapari’, ‘Red small’, ‘Himsagar’, ‘Neelum’, ‘Extreme’, ‘Zill’, ‘Eward’ y ‘Amrapali’ (moderadamente susceptibles) y ‘Tommy Atkins’, ‘Chausa’, ‘Zardalu’ y ‘Ratna’ (altamente susceptibles). En México 2012, los cvs. ‘Haden’ y ‘Cotaxtla’ mostraron alta susceptibilidad (índice 4); mientras que, diferentes selecciones de Ataúlfo fueron tolerantes (índice 2) (García, 2012).

Diferentes especies de *Fusarium* pueden incrementar la producción de metabolitos secundarios en plantas de mango con síntomas de MVF. Se ha reportado que algunos compuestos fenólicos y fitoalexinas pueden estar implicados en la resistencia al patógeno (Singh, 2006), ya que la

concentración (fenoles) es mayor en tejido infectado (*F. moniliforme*, *F. oxysporum*) y puede variar con el cultivar y condiciones ambientales (Chakrabarti, 2011; Kumar *et al.*, 2011). Es importante destacar que la mayoría de los trabajos relacionados con las respuestas de defensa consideran principalmente el contenido de fenoles totales. La mangiferina (fitoalexina), metabolito natural de *Mangifera indica*, se encuentra principalmente en los tejidos meristemáticos e influye en la diferenciación de yemas; en condiciones *in vitro* inhibe el crecimiento de *Fusarium* spp., y en los brotes con síntomas de malformación pueden incrementar la concentración significativamente (319%) en relación con los sanos (Chakrabarti y Ghosal, 1989; Chakrabarti *et al.*, 1990; Kumar y Chakrabarti, 1992). Singh, (2006), mencionó que el contenido de mangiferina fue mayor en el cultivar tolerante ('Elaichi'), que en los susceptibles ('Beauty Mc-lin', 'Amrapali' y 'Dashesari').

La MVF presenta incidencia y severidad contrastantes por la aptitud epidémica que el patógeno muestra en diferentes regiones agroecológicas (trópicos seco, húmedo y subhúmedo) de México (Espinosa *et al.*, 2007) y el mundo (Ploetz, 2001; Dias *et al.*, 2003). Poco se conoce sobre los metabolitos secundarios producidos por la planta y su relación con la infección por el patógeno, por lo que la susceptibilidad contrastante de los cultivares (García, 2012) a *Fusarium* spp., proporcionará una base para estudiar la relación de algunos compuestos fenólicos con diferentes niveles de tolerancia mostrados por cultivar. Es prioritario conocer la tolerancia comparativa de los cultivares de importancia económica (local y de exportación), actuales e introducidos, ya que en un país con problemas severos de MVF como México, la productividad de los materiales dependerá significativamente de la tolerancia a *Fusarium* spp., y los costos financieros estarán en función del mantenimiento sanitario requeridos para estos cultivares.

## **Hipótesis**

Todos los cultivares de mango de cultivo extensivo y de reciente introducción presentan tolerancia diferenciada a la infección por *Fusarium subglutinans* y *F. mexicanum*.

Los cultivares de mango con mayor concentración de mangiferina y compuestos de naturaleza fenólica presentaran mayor tolerancia a *Fusarium subglutinans* y *F. mexicanum*.

## **Objetivos**

Determinar la tolerancia de cultivares de mango de cultivo extensivo nacional (cvs. 'Ataúlfo' y 'Haden') y de introducción reciente (cvs. 'Rosigold', 'Mallika' y 'Nam Doc Mai') a *Fusarium subglutinans* y *F. mexicanum*.

Evaluar la concentración de mangiferina y ácidos clorogénico, gálico, ferúlico, cafeico y p-hidroxibenzoico como posibles compuestos involucrados en la defensa contra *F. subglutinans* y *F. mexicanum* en cinco cultivares de mango.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Origen y distribución del mango

El mango (*Mangifera indica* L.) es originario de la región Indobirmana, donde se ha cultivado al menos desde hace 4,000 años y además tiene significado cultural y religioso. Con la llegada de los navegantes a India desde Europa, el mango se estableció pronto en las zonas tropicales y subtropicales. Considerando que los portugueses fueron los primeros en establecer rutas comerciales con la India, transportaron el mango hacia África y Brasil, después se extendió a Barbados y otras islas del Caribe, posteriormente llegó a la costa del Golfo de México (Veracruz, México) (Mukherjee y Litz, 2009). Los españoles introdujeron mango ‘Manila’ por medio de la ruta Nao de China desde Manila (Islas Filipinas) al Puerto de Acapulco (Guerrero, México). En 1951 y 1954 en Cuajinicuilapa, Guerrero se establecieron las primeras huertas comerciales de mango con los cvs. ‘Haden’, ‘Kent’, ‘Keitt’, ‘Tommy Atkins’ e ‘Irwin’, procedentes de Florida, EE.UU. (Mosqueda *et al.*, 1996). La última introducción de cultivares se realizó en 2011 y 2012 por investigadores del Colegio de Postgraduados; el germoplasma estuvo compuesto por los cvs. ‘Mallika’, ‘Ivory’, ‘Rosigold’, ‘Nam Doc Mai’, ‘Fairchild’, ‘Neelum’, ‘Alphonse’ y ‘Kesar’ procedentes del Fairchild Tropical Botanic Garden, Florida, EE.UU. Actualmente se evalúa el comportamiento agronómico y fitosanitario de estos materiales a las principales plagas de importancia económica en México (Comunicación personal<sup>2</sup>).

### Producción del mango

El mango, uno de los frutales de mayor importancia económica en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, ocupa el sexto lugar por volumen de producción después del banano, plátano, manzana, uva y naranja. Los principales países productores de mango son India (40.98%),

---

<sup>2</sup> Dr. J. Antonio Mora A. Profesor investigador del Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, México (aguilera@colpos.mx).

China (10.13%), Tailandia (7.15%), Indonesia (4.69%) y México (4.33%). Por superficie plantada, México representa el cuarto productor a escala mundial con 198,883 has y el primer lugar en exportación (20.52%) (FAOSTAT, 2016).

En México, 97% de la producción de mango se concentra en los estados de Guerrero, Chiapas, Nayarit, Oaxaca, Michoacán, Sinaloa, Veracruz, Jalisco, Colima y Campeche. Los principales cultivares son: ‘Ataúlfo’ (26%), ‘Manila’ (18%), ‘Tommy Atkins’ (13%), ‘Haden’ (13%), ‘Kent’ (12%) y ‘Keitt’ (5%) (SIAP-SAGARPA, 2016), siendo ‘Ataúlfo’ el principal cultivar de exportación. Entre 2002 y 2008, la superficie nacional de mango se incrementó en 106%, pero en los principales cultivares fue de 246, 565, 159, 283, 110 y 345% para ‘Ataúlfo’, ‘Haden’, ‘Keitt’, ‘Kent’, ‘Manila’ y ‘Tommy Atkins’ respectivamente. Considerando el rendimiento promedio nacional (10 t ha<sup>-1</sup>), se puede concluir que la demanda se ha atendido aumentando la superficie plantada y no el rendimiento (Villegas y Mora, 2011).

### **Enfermedades del mango**

En el mundo, la planta de mango es afectada principalmente por hongos que causan enfermedades en los distintos órganos como tallo, rama, raíz, hojas, flores y frutos. Entre las enfermedades precosecha destacan la antracnosis (*Colletotrichum* spp.), malformación vegetativa o floral o ‘escoba de bruja’ (*Fusarium* spp), cenicilla (*Oidium mangiferae*; sin. *Pseudoidium anacardii*), muerte descendente (especies de Botryosphaeriaceae), mancha plateada (*Pestalotiopsis mangiferae*), roña (*Denticularia mangiferae*), mancha negra (*Alternaria* spp;), pudrición de raíz y canchales de tallo (*Phytophthora* spp., *Lasiodiplodia* spp.), mancha foliar oval (*Phoma* spp.), secadera (*Ceratocystis fimbriata*) y marchitez de plántulas (*Pythium* spp y *Rhizoctonia solani*). En postcosecha son importantes la antracnosis (*Colletotrichum* spp.) y

podrición del pedúnculo (especies de Botryosphaeriaceae) y fruto (*Alternaria* spp.) (Ploetz *et al.*, 1994, Ploetz, 2003; Ploetz y Freeman, 2009).

En México, las principales enfermedades son malformación vegetativa y floral (MVF), antracnosis, cenicilla, muerte descendente, pudrición texana y canchales del tallo. La mayoría de éstas tienen distribución amplia y son endémicas; los daños dependen de las condiciones climáticas y las tecnologías de manejo agronómico y sanitario. En general estas enfermedades pueden ser muy destructivas (Mora *et al.*, 1998).

### **Importancia y distribución de la malformación vegetativa y floral**

En la mayoría de las zonas productoras de mango con clima seco y semi-árido se presenta la MVF. Los síntomas en brotes vegetativos malformados consisten en pérdida de dominancia apical, proliferación de yemas con entrenudos cortos y engrosados, las hojas son pequeñas, quebradizas y angostas. Las inflorescencias malformadas presentan ejes primarios y secundarios muy ramificados, acortados y engrosados, el número de flores masculinas se incrementa significativamente y son más grandes que las sanas, las flores hermafroditas son estériles, pero si se fecundan, posteriormente abortan (Kumar *et al.*, 1993; Ploetz, 2003). La enfermedad es compleja y se observa en plantas de cualquier edad, tanto en huertos comerciales y viveros.

La MVF se reportó por primera vez en la India en 1891, posteriormente se ha observado en Australia, Brasil, Bangladesh, Cuba, China, Egipto, El Salvador, India, Israel, Malasia, México, Myanmar, Nicaragua, Omán, Pakistán, Senegal, Sudáfrica, España, Sri Lanka, Sudán, Uganda, Estados Unidos, España y República Dominicana (Chakrabarti, 2011; Freeman *et al.*, 2014b; García *et al.*, 2016). La enfermedad se ha extendido ampliamente, ya que se transmite fácilmente por germoplasma infectado (Chakrabarti, 2011). En México, se registró por primera vez en 1958 (Chávez *et al.*, 2001); a la fecha se ha extendido en la mayoría de los estados productores, de las

regiones del Golfo y Pacífico y la mayor severidad se ha detectado a alturas comprendidas entre los 200 y 700 m de altitud (Espinosa *et al.*, 2007).

### **Etiología**

Diferentes especies del género *Fusarium* se han confirmado como agentes causales de la enfermedad (Arif *et al.*, 2011). Inicialmente, el patógeno se identificó como *F. moniliforme* Sheld, posteriormente se asoció con *F. subglutinans* (Wollwweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas (*F. moniliforme* var. *subglutinans*) (Kumar *et al.*, 1993). Sin embargo, Britz *et al.* (2002) describieron las especies *F. mangiferae* y *F. sterilihyphosum* con base en el análisis de secuencias parciales de los genes  $\beta$ -tubulina e histona (H3). A *F. mangiferae* lo relacionan como el agente causal más común de la MVF en la mayoría de la regiones productoras de mango (Chakrabarti, 2011; Freeman *et al.*, 2014b). *F. sterilihyphosum* esta reportado en Sudáfrica, Brasil y Egipto (Freeman *et al.*, 2014b; Haggag y El-Wahab, 2009). Otras especies relacionadas con la enfermedad son: *F. proliferatum* en Egipto, China y Malasia (Haggag y El-Wahab, 2009; Zhan *et al.*, 2010; Mohamed, *et al.*, 2013); *F. tuiense* en Brasil, Senegal y España (Lima *et al.*, 2012; Senghor *et al.*, 2012; Crespo *et al.*, 2016); *F. pseudocircinatum* en República Dominicana (García *et al.*, 2016). En México, se ha reportado a *F. subglutinans* y *F. oxysporum* en Michoacán, Guerrero y Morelos (Noriega *et al.*, 1999; Mora *et al.*, 2003). Recientemente se consignó a *F. mexicanum* en Jalisco, Michoacán y Guerrero (Otero *et al.*, 2010) y *F. pseudocircinatum* en Guerrero, Campeche y Chiapas (Freeman *et al.*, 2014a).

### **Condiciones para el desarrollo de la enfermedad**

Existen pocos estudios relacionados con la influencia de factores del clima en el desarrollo de la MVF. En México, Noriega *et al.* (1999), encontraron que la densidad más alta de *Fusarium* spp., se registró con humedad relativa alta (92-94%), temperatura (16-27.5 °C) y velocidad promedio

del viento (1.5 m/s), durante la estación de lluvias. La enfermedad presentó un periodo de incubación de 2 a 4 meses. Considerando un modelo de espacio-tiempo propuesto por Gamliel *et al.* (2009b), los conidios de *Fusarium* spp., que se producen en panículas o crecimientos vegetativos malformados, se dispersan por aire a yemas latentes del mismo árbol y en arboles vecinos. También sugieren que *Aceria mangiferae* puede llevar conidios sobre el cuerpo y las heridas que causa por la alimentación en yemas vegetativas y florales facilita la penetración. Ploetz (2003), mencionó que las esporas (micro y macronidios) formadas en los tejidos muertos con malformación vegetativa y floral son fuente de inoculo secundario. Gamliel *et al.* (2009a), documentaron que la germinación de los conidios y la infección de las yemas apicales ocurre con temperaturas moderadas de 15 a 30 °C y mayor duración de la humedad (>3 h).

### **Tolerancia varietal**

Para estimar la tolerancia a *Fusarium* spp. se han propuesto distintos métodos de evaluación. Por ejemplo, Kumar y Beniwal (1992), sugirieron fórmulas para evaluar la incidencia ( $DI = N1/N2$ ) y severidad [ $DS = (D1+D2/T1+T2) \times 100$ ] y escala de nueve grados (1= resistente, 3= moderadamente resistente, 5= tolerante, 7= moderadamente susceptible; 9= susceptible). Iqbal *et al.* (2006), proponen cinco niveles con base en síntomas de MVF. Sin embargo, para lograr mayor precisión en la evaluación es deseable complementar los métodos cualitativos o de apreciación visual con la incorporación de elementos cuantitativos. La susceptibilidad en los cultivares de mango es variable e influyen distintos factores ambientales y características genéticas del hospedante. Asimismo, la expresión puede variar por región y de un año a otro (Kumar *et al.*, 2011).

En India, Chad *et al.* (2013), documentaron que de 51 cultivares evaluados por la tolerancia a *Fusarium* spp., sólo 'Rumani' se comportó 'inmune', 'Gulabkhas', 'Irvin' y 'Amrapali'

susceptibles y ‘Neelam’ altamente susceptible. Singh *et al.* (2012), encontraron a ‘Elaichi’ y ‘Bhadauran’ libre de la MVF y a ‘Bombay Green’, ‘Mallika’ y ‘Amrapali’ altamente susceptibles. Kumar (2014), observó variación en la incidencia del 0.47 al 60.24% en 65 cultivares de mango evaluados durante tres años consecutivos bajo condiciones de campo y registró que ‘Bangalora’, ‘Baneshan’, ‘Dahiyar’, ‘Rammanna’, ‘Shakul’ y ‘Safeda’ mostraron resistencia; en contraste, ‘Moovandan’ fue altamente susceptible. Asimismo, Rymbai y Rajes (2011) clasificaron cultivares comerciales monoembriónicos (‘Dashaheri’, ‘Langra’, ‘Chausa’, ‘Malda’ y ‘Safeda’) y poliembrionicos (‘Carabao’ o ‘manila’, ‘Peach’, ‘Cecil’ y ‘Turpentine’) como susceptibles.

En Egipto, la enfermedad es severa en ‘Gylore’, ‘Mabrouka’ y ‘Tamour’, mientras que, ‘Zebda’ y ‘Anshas Hindi’ rara vez son afectados (Kumar *et al.*, 1993). Krishnan *et al.* (2009), clasificaron a 25 cultivares de mango en cinco categorías con base en parámetros bioquímicos como contenido fenólico y actividad de la polifenol oxidasa: ‘Bhadauran’ y ‘H-8-1’ (altamente resistentes); ‘Dashehari’, ‘Langra’, ‘Kurukkan’ y ‘Fazli’ (moderadamente resistentes); ‘Sensation’, ‘Eldon’, ‘Rataul’, ‘Mallika’ y ‘Alphonse’ (susceptibles); ‘H-31-1’, ‘Lalsundri’, ‘Totapari’, ‘Red small’, ‘Himsagar’, ‘Neelum’, ‘Extreme’, ‘Zill’, ‘Eward’ y ‘Amrapali’ (moderadamente susceptibles); y ‘Tommy Atkins’, ‘Chausa’, ‘Zardalu’ y ‘Ratna’ (altamente susceptibles). Bastawros (1996), observó que ‘Kent’ y ‘Keitt’ fueron inmunes; sin embargo, en otros países se han reportado como susceptibles cuando se infecta de forma natural o por inoculación artificial.

En Pakistán, Iqbal *et al.* (2004), mencionaron que en ocho distritos de la provincia de Punjab se encontró una amplia distribución de la MVF con una prevalencia del 100%. La severidad máxima fue de 66.23% y todas los cultivares locales o exóticos se encontraron afectados en un rango de 14 a 43%, siendo ‘Desi’, ‘Sindhri’, ‘Anwar rataul’, ‘Dusehri’ y ‘Malda’ susceptibles.

En Brasil, en la región productora de mango del estado de Bahía, se encontró que la incidencia de la malformación floral fue de 54% con una severidad del 17% en aproximadamente el 10% de la superficie plantada con 'Tommy Atkins' (Sao-Jose *et al.*, 2000). Además, Dias *et al.* (2003), confirmaron que 'Haden' fue susceptible (severidad=79.47%), mientras que 'Palmer' y 'Tommy Atkins' tuvieron 21.15 y 16.49% de severidad, respectivamente. Zaccaro *et al.* (2007), mencionaron que después de 11 meses de la inoculación 'Palmer', 'Parvin', 'Sensation', 'Van Dyke' y 'Zill' presentaron menor incidencia (10%), en tanto 'Tommy Atkins' y 'Keitt' fueron susceptibles (severidad=30%) a *F. subglutinans*.

En México, los cultivares monoembriónicos del tipo "petacón" y criollos poliembriónicos son los que presentan mayores daños, con incidencias que fluctúan entre 15 y 87% y reducen los rendimientos hasta en 50% en arboles adultos (Vega y Miranda, 1993; Noriega *et al.*, 1999). En 2012, 'Haden' y 'Cotaxtla' mostraron incidencia de 70 y 60%, respectivamente, con alta susceptibilidad (índice 4); mientras que, diferentes selecciones de Ataúlfo (Diamante, A-4 y A-8) fueron tolerantes al presentar menor incidencia (índice 2) (García, 2012).

### **Mecanismos de defensas en las plantas**

Las plantas han evolucionado y desarrollado complejos y variados mecanismos de defensa para protegerse de herbívoros y patógenos. Estas defensas pueden ser constitutivas o inducidas después de ser atacadas (Madriz, 2002). Los mecanismos constitutivos o "preformados" pueden dividirse en defensas estructurales, como la presencia de capas gruesas de cutícula, presencia de tricomas o deposición de ceras; y en defensas químicas, la acumulación de compuestos tóxicos en las células vegetales. Los mecanismos inducidos se activan como respuesta al ataque de un patógeno (Cruz *et al.*, 2006). Egea *et al.* (1996), proponen que todas las plantas poseen el potencial genético para defenderse del ataque de patógenos bióticos y que la resistencia o susceptibilidad está determinada

por la velocidad y la magnitud con que ese potencial se exprese. La defensa mediante compuestos químicos tiene dos vertientes a considerar, los compuestos antimicrobianos de bajo peso molecular presentes en todas las etapas del desarrollo de las plantas o en alguna fase del ciclo biológico, y los incrementados a partir de compuesto existentes después de la infección (Grayer y Harborne, 1994).

### **Compuestos fenólicos asociados con mecanismos de defensa**

Los compuestos fenólicos se caracterizan por la presencia de un anillo aromático y se derivan de los ácidos benzoico y cinámico. El número de los grupos hidroxilo y sus posiciones en el anillo aromático varían, originando diferentes ácidos fenólicos que se pueden encontrar en forma libre o frecuentemente ligados en forma de ésteres o glucósidos (Lattanzio *et al.*, 2006). Farah y Marino, (2006), clasificaron compuestos fenólicos de plantas en ácidos benzoicos (ácidos gálico, protocatecuico y *p*-hidroxibenzoico) e hidroxicinámicos (ácidos cumárico, cafeico, ferúlico y clorogénico), taninos hidrolizables, estilbenos y lignanos.

Mandal *et al.* (2010), mencionaron que los ácidos fenólicos pueden cumplir funciones como constituyentes de las paredes celulares en plantas, regulando la plasticidad de la pared celular, compuestos antimicrobianos y pueden actuar como moléculas de señalización modulando la interacción planta-microorganismo. La acumulación de compuestos fenólicos durante el proceso de infección por patógenos ha sido reportada para diferenciar cultivares susceptibles y resistentes (Treutter y Feucht, 1990). Mikulic *et al.* (2008), sugirieron que la acumulación de compuestos fenólicos es una respuesta posterior a la infección del patógeno, ya que tejidos de *Malus domestica* infectados con *Venturia inaequalis* incrementaron el contenido en 10% respecto a los sanos.

Algunos compuestos fenólicos como los ácidos clorogénico y cafeico se han reportado como tóxicos para los patógenos, éstos se producen y acumulan a mayor velocidad en los cultivares

resistente que en los susceptibles (Agrios, 2005). Grayer y Harborne, (1994), consideraron que el ácido gálico es inhibidor de hongos patogénicos y saprófitos, probablemente por la acumulación de quinonas que se forman en las reacciones catalizadas por polifenol oxidasa. Las heridas por factores bióticos y abióticos en las plantas pueden inducir ácido clorogénico y ésteres de ferulato, los cuales están unidos a la pared celular y pueden servir como precursores para la síntesis de lignina, suberina y otros polifenoles, o actuar directamente como compuestos de defensa contra patógenos o herbívoros (Dixon y Paiva, 1995). Nicholson y Hammerschmidt (1992), sugirieron que la acumulación de ácido clorogénico puede representar un aumento general de la biosíntesis fenólica; dicha síntesis determina en última instancia la acumulación de compuestos con suficiente toxicidad para estar involucrado en la resistencia.

En cultivares resistentes de *Malus doméstica*, la infección por *V. inaequalis* estimuló la acumulación de ácidos fenólicos (ácidos clorogénico, cafeico y ferúlico) más rápido que en los susceptibles (Mikulic *et al.*, 2003; Picinelli *et al.*, 1995). Asimismo, entre cultivares susceptibles, ‘Golden Delicious Weinsberg’ tuvo más concentración de ácido clorogénico que ‘Golden Delicious Clone B’ (Mikulic *et al.*, 2003). Se ha observado que la presencia de ácidos clorogénico y cafeico inhiben el crecimiento de *Monilinia fructicola* inoculado en frutos de *Prunus persica*, debido a la abundancia en células epidérmicas (Agrios, 2005; Gradziel *et al.*, 1998).

El ácido cafeico juega un papel importante en la ruta de los fenilpropanoides y actúa como precursor en la síntesis de lignina y producción de múltiples metabolitos secundarios; también es un antioxidante y tiene potencial como protector general contra los radicales libres (Lim *et al.*, 2003). Derivados de este compuesto son buenos sustratos de la polifenol oxidasa y en ciertas condiciones es propenso a la oxidación por O<sub>2</sub> (auto-oxidación), ocasionando la formación de quinonas, las cuales son tóxicas para los microorganismos (Bassil *et al.*, 2005). El ácido ferúlico

proporciona rigidez a la pared celular entrecruzando cadenas de pentosa, arabinosilanos y hemicelulosa; también, participa en la regulación del crecimiento y proporciona protección contra el ataque de aves, insectos, virus y hongos (Gámez y Sánchez, 2006).

En el mango, los cambios morfológicos y bioquímicos que se presentan ante el ataque de *Fusarium* spp. se han relacionado con el aumento de la producción de metabolitos secundarios en respuesta a la infección (Singh, 2006); sin embargo, no se han encontrados reportes de ácidos fenólicos específicos relacionados a la MVF. Kumar *et al.* (2011), sugirieron que los fenoles en órganos vegetativos malformados están presentes en altas concentraciones respecto a plantas sanas; además, los niveles dependen del cultivar y condiciones climáticas. Según Chakrabarti (2011), los brotes juveniles inoculados con *F. moniliforme* incrementan el contenido fenólico. Reportes previos de otros compuestos (polifenol oxidasa) vinculados con tejidos malformados tienen una relación inversa entre la actividad de catecolasa y cresolasa con la incidencia de la enfermedad. Asimismo proponen medir la actividad para detectar cultivares con resistencia a la malformación floral (Sharma *et al.*, 2001).

### **Fitoalexinas**

Las fitoalexinas son compuestos antimicrobianos de bajo peso molecular que son sintetizados y acumulados en plantas después de la exposición a microorganismos (Paxton, 1980). También pueden producirse por estrés inducido por niveles altos de radiación ultravioleta, heridas, descenso de la temperatura y por la aplicación de fungicidas. La tasa de acumulación de fitoalexinas parece estar en concordancia con la tolerancia/ resistencia de las plantas contra patógenos como hongos o bacterias, sin importar si son producidas *de novo* o a partir de la acumulación de precursores conocidos (Kuc, 1995). La mayoría de fitoalexinas son menos tóxicas que los fungicidas sintéticos, pero pueden acumularse en grandes cantidades en los tejidos de plantas, en cantidades muy

superiores a las concentraciones necesarias para inhibir el crecimiento de hongos (Harbone, 1999; Agrios, 2005).

Las fitoalexinas son componentes de un mecanismo complejo que promueve la resistencia a patógenos (Kuc, 1995). Algunas horas después del ataque de patógeno, éstos compuestos se sintetizan rápidamente en las células sanas adyacentes a las células dañadas, y pueden ser tóxicas para diferentes hongos y bacterias (Taiz y Zeiger, 2002).

En mango, la mangiferina además de actuar como una fitoalexina, es un metabolito que se encuentra en los sitios de diferenciación de yemas e influye en los cambios del crecimiento reproductivo a vegetativo. En alta concentración, éste compuesto puede suprimir la actividad de la peroxidasa, catalasa y  $\alpha$ -amilasa. Además incrementa la tasa de fotosíntesis y mejorar la producción de clorofila y ácido indolacético e incrementa la síntesis de carbohidratos (Chakrabarti *et al.*, 1990; Rymbai y Rajesh, 2011).

Krishnan *et al.*, (2009), sugieren que la concentración de mangiferina en tejidos enfermos de mango puede disminuir el nivel de infección de *Fusarium* spp. Chakrabarti y Ghoshal (1989), observaron que en el cv. 'Langra', este compuesto estaba ausente en panículas sanas, pero presente en altas concentraciones en panículas malformadas; además, sugirieron que a baja concentración estimula el crecimiento del hongo pero en altas concentraciones se inhibe el crecimiento. Singh, (2006), mencionó que el contenido fue mayor en el cultivar tolerante ('Elaichi'= 28-108 mg g<sup>-1</sup> de p.s.) que en los susceptibles ('Beauty Mc-lin'= 19-74; 'Amrapali'= 20-83 y 'Dasheshari'= 19-90 mg g<sup>-1</sup> de p.s.). Ansari *et al.* (2005), reportaron que la mangiferina inhibió la germinación y el crecimiento de *Fusarium* spp., y la respuesta inhibitoria aumentó constantemente con base en la concentración de mangiferina.

## REFERENCIAS

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5th Ed. Elsevier Academic Press. USA 922 p.
- Ansari, M.W., Nailwal, T.K., Gomathi, A., Singh, A.K., Bains, G., Shukla, A., Chaube, H.S., Singh, U.S., and Pant, R.C. 2005. Mangiferin (1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone-C2- $\beta$ -D-glucoside), a phenolic metabolite of mango (*Mangifera indica* L.), affects germination of spore of *Fusarium* sp. Journal of Plant Biology, 32 (3): 155-159.
- Arif, M., Pani, D.R., Zaidi, N.W., and Singh, U.S. 2011. PCR-Based identification and characterization of *Fusarium* sp. associated with mango malformation. Biotechnology Research International, Article ID 141649, 6 pages. doi:10.4061/2011/141649.
- Bassil, D., Makris, D.P. and Kefalas, P. 2005. Oxidation of caffeic acid in the presence of L-cysteine: isolation of 2-S-cysteinylcaffeic acid and evaluation of its antioxidant properties. Food Research International, 38: 395–402.
- Bastawros, M. K. 1996. Mango malformation in Egypt. Acta Horticulturae, 455:566-574.
- Britz, H., Steenkamp, T.E., Coutinho, A.T., Wingfield, D.B., Marasas, W.F.O., and Wingfield, M.J. 2002. Two new species of *Fusarium* section *Liseola* associated with mango malformation. Mycologia, 94: 722-730.
- Chad, G., Srivastava, J.N., Kumar, S., and Kumar, R. 2013. Screening of different germplasms against floral malformation of mango in eastern Bihar. International Journal of Agricultural Sciences, 9(2): 499-503.
- Chakrabarti, D.K. 2011. Mango malformation. Springer Press, NY, USA. 148 p.
- Chakrabarti, D.K., and Ghosal, S. 1989. The disease cycle of mango malformation induced by *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* and the curative effects of mangiferin metal chelates. Journal of Phytopathology, 125: 238–246.

- Chakrabarti, D.K., Singh, A., and Singh, K. 1990. Physiological and biochemical changes induced by accumulated mangiferin in *Mangifera indica*. Journal Horticulturae Science, 65: 731–737.
- Chakraborti, K., and Kumar, M.D. 2014. Evaluation of taxa for tolerance against floral malformation in Gangetic West Bengal. Universal Journal of Plant Science, 2(2): 27-30.
- Chávez, C.X., Vega, P.A., Tapia, V.L.M. y Miranda, S.M.A. 2001. Mango. Su manejo y producción en el Trópico Seco de México. Libro Técnico No. 1. INIFAP. 108 p.
- Crespo, M., Cazorla, M., Vicente, A., Arrebola, E., Torés, J., Maymon, M., Freeman, S., Aoki, T., and O'Donnell, K. 2016. Analysis of genetic diversity of *Fusarium tupsiense*, the main causal agent of mango malformation disease in southern Spain. Plant Disease, 100(2): 276-286.
- Cruz, B.M., Hernández, F.Y., y Rivas, F.E. 2006. Mecanismos de resistencia de las plantas al ataque de patógenos y plagas. Temas de Ciencia y Tecnología, 10(29): 45-54.
- Dias, N., Vila, M., Viana, A., Rebouças, T., Jose A., Baoretto, M., Bonfim, M., e Ribeiro, A. 2003. Incidência e severidade da malformação floral em seis cultivares de mangueira. Revista Brasileira de Fruticultura, 25(1): 179-180.
- Dixon, A.R., and Paiva, L.N. 1995. Stress-Induced phenylpropanoid metabolism. The Plant Cell, 7: 1085-1097.
- Egea, C., García, P., and Candela, M. 1996. Capsidiol accumulation in *Capsicum annuum* stems during the hypersensitive reaction to *Phytophthora capsici*. Plant Physiology, 149: 762-764.
- Espinosa, J., Miranda, M., Arias, J., Rico, H., y Javier, J. 2007. La escoba de bruja o malformación floral del mango en Michoacán. Folleto Técnico Núm. 1. INIFAP. CIRPAC. Campo experimental Valle de Apatzingán. Michoacán, México. 38 p.
- FAOSTAT, 2016. Food and Agriculture Organization. Statistical Database Internet. Disponible en: <http://faostat.fao.org/default.aspx> (consultado en agosto 2016).

- Farah, A., and Marino, D.C. 2006. Phenolic compounds in coffee. *Journal of Plant Physiology*, 18 (1): 23-36.
- Freeman, S., Otero, C.G., Rodríguez, A.G., Fernández, P.S., Maymon, M., Ploetz, R.C., Aoki, T., and O'Donnell, K. 2014a. First report of mango malformation disease caused by *Fusarium pseudocircinatum* in Mexico. *Plant Disease*, 98: 1583.
- Freeman, S., Shtienberg, D., Maymon, M., Levin, A.G., and Ploetz, R.C. 2014b. New insights into mango malformation disease epidemiology lead to a new integrated management strategy for subtropical environments. *Plant Disease*, 98: 1456-1466.
- Gómez, L.N., y Sánchez, G.M. 2006. Extracción química enzimática del ácido ferúlico presente en diferentes variedades de maíz mexicano. II Congreso de Ciencias Farmacéuticas de la Conferencia Hispanoamericana de Facultades de Farmacia (COHIFFA) y el VIII Congreso Regional de Químicos Fármaco Biólogos.
- Gamliel, A., Szejnberg, A., Maymon, M., Szejnberg, D., and Freeman, S. 2009a. Inoculum availability and conidial dispersal patterns of *Fusarium mangiferae*, the causal agent of mango malformation disease. *Phytopathology*, 99: 160–166.
- Gamliel, A., Freeman, S., Szejnberg, A., Maymon, M., Ochoa, R., Belausov, E., and Palevsky, E. 2009b. Interaction of the bud mite *Aceria mangifera* with *Fusarium mangiferae* the causal agent of mango malformation disease. *Phytopathology*, 99: 152–159.
- García, L.E. 2012. Tolerancia de cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) a la proliferación vegetativa y floral (*Fusarium* spp.) en México. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. 61 p.

- García, L.E., Mora, A.J.A., Nava, D.C., Villegas, M.A., Tovar, P.J.M., Serra, C.A., and Batista, M.C.M. 2016. First report of *Fusarium pseudocircinatum* causing mango malformation disease in Dominican Republic. *Plant Disease*, 100(7): 1501.
- Gradziel, T.M., Thorpe, M.A., Bostock R.M., and Wilcox, S. 1998. Breeding for brow rot (*Monilinia fructicola*) resistance in clingston peach with emphasis on the role of fruit phenolics. *Acta Horticulturae*, 465: 161-169.
- Grayer, R. J., and Harborne, J.B. 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry*, 37: 19-42.
- Haggag W., and El-Wahab, M. 2009. First report of *Fusarium sterilihyphosum* and *F. proliferatum* induced malformation disease of mango in Egypt. *Journal of Plant Pathology*, 91(1): 232.
- Harborne, J.B. 1999. The comparative biochemistry of phytoalexin induction in plants. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27: 335-367.
- Infante, F., Quilantán, J., Rocha, F., Esquinca, H., Castillo, A., Ibarra, N.G., y Palacio, V. 2011. Mango Ataúlfo: Orgullo chiapaneco. CONABIO. *Biodiversitas*, 96: 1-5.
- Iqbal, Z., Saleem, A., and Dasti, A. 2004. Assessment of mango malformation in eighth districts of Punjab (Pakistan). *International Journal of Agriculture and Biology*, 6: 620-623.
- Iqbal, Z., Rehman, M., Dasti, A., Saleem, A., and Zafar, Y. 2006. RAPD analysis of *Fusarium* isolates causing mango malformation disease in Pakistan. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 22: 1161-1167.
- Krishnan, A.G., Nailwal, T.K, Shukla, A., and Pant, R.C. 2009. Mango (*Mangifera indica*. L) Malformation an Unsolved Mystery. *Researcher*, 1: 20-36.
- Kuc, J. 1995. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. *Annual Review Phytopathology*, 33: 275–97.

- Kumar, J., and Beniwal, S.P.S. 1992. Mango malformation. *In*: Plant disease of international importance. Vol. 3, Disease of fruit crops. Kumar, J., Chaube, H.S., Singh, U.S., and Mukhopandhyay, N.A., (Eds). Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ. pp 357-339.
- Kumar, R., and Chakrabarti, D.K. 1992. Biochemical evidence of physiological specialization of *Fusarium moniliforme* Sheld, the incitant of malformation disease of *Mangifera indica* L. Indian Journal of Experimental Biology, 30(5): 448-450.
- Kumar, J., Singh, U.S., and Beniwal, S.P.S. 1993. Mango malformation: one hundred years of research. Annual Review Phytopathology, 31: 217-232.
- Kumar, P., Misra, A.K., and Modi, D.R. 2011. Current status of mango malformation in India. Asian Journal of Plant Sciences, 10: 1-23.
- Lattanzio, V., Lattanzio, T.M.V., and Cardinali, A. 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. Phytochemistry: Advances in Research, 23-67.
- Lim, K.E., Higgins, S.G., Li, Y., and Bowles, J.D. 2003. Regioselectivity of glucosylation of caffeic acid by a UDP-glucose:glucosyltransferase is maintained in planta. Biochemistry Journal, 373: 987-992.
- Lima, C.S., Pfenning, L.H., Costa, S.S., Abreu, L., and Leslie, J.F. 2012. *Fusarium tupiense* sp. nov., a member of the *Gibberella fujikuroi* species complex that causes mango malformation in Brazil. Mycologia, 104: 1408-1419.
- Madriz, O.K. 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. Manejo Integrado de Plagas, 63: 22-32.
- Mandal, M.S., Chakraborty, D., and Dey, S. 2010. Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. Plant Signaling and Behavior, 5(4): 359-368.

- Mikulic, P.M., Usenik, V., and Stampar, F. 2003. The role of chlorogenic acid in the resistance of apples to apple scab (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wind. Aderh.). Zbornik Biotehniške Fakultete Univerze v Ljubljani Kmetijstvo, 81: 233–242.
- Mikulic, P.M., Stampar, F., and Veberic, R. 2008. Increased phenolic content in apple leaves infected with the apple scab pathogen. *Journal of Plant Pathology*, 90(1): 49-55.
- Mohamed, N.N.M.I., Salleh, B., and Leslie, J.F. 2013. *Fusarium* species associated with mango malformation in Peninsular Malaysia. *Journal of Phytopathology*, 161: 617–624.
- Mora, A.J.A., Vega, P.A., y Téliz, O.D. 1998. Enfermedades del mango. GIIM (Grupo Interdisciplinario de Investigación en Mango). *In: El mango y su manejo integrado en Michoacán*. Téliz, D. (Ed). Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. pp 18-44.
- Mora, A.A., Téliz, O.D., Mora, A.G., Sánchez, G.P., y Javier, M.J. 2003. Progreso temporal de “escoba de bruja” (*Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*) en huertos de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21: 1-12.
- Mosqueda, V.R., De los Santos, R.F., Becerra, E.N., Cabrera, M.H., Ortega, Z.D.A. y Del Angel, P.A.L. 1996. Manual para cultivar mango en la planicie costera del Golfo de México. Folleto Técnico Núm. 15. INIFAP. CIRGOC. Campo experimental Cotaxtla. Veracruz, México, 130p.
- Mukherjee, S.K., and Litz, R.E. 2009. Fruit Disease. *In: The mango: Botany, Production and Use*. Litz, R.E. (Ed). CABI Publishing. London, UK. pp: 1-18.
- Nicholson, R.L., and Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annual Review Phytopathology*, 30: 369-389.
- Noriega, C.D., Téliz D., Mora, A.G., Rodríguez, A.J., Zavaleta, M.E., Otero, C.G., and Lee, C.C. 1999. Epidemiology of mango malformation in Guerrero, México, with traditional and integrated management. *Plant Disease*, 83: 223-228.

- Otero, C.G., Rodríguez, A.G., Fernández, P.S., Maymon, M., Ploetz, R.C., Aoki, T., O'Donnell, K., and Freeman, S. 2010. Identification and characterization of a novel etiological agent of mango malformation disease in Mexico, *Fusarium mexicanum* sp. nov. *Phytopathology*, 100: 1176-1184.
- Paxton, J.D. 1980. A new working definition of the term “phytoalexin”. *Plant Disease*, 64(8): 734.
- Picinelli, A., Dapena, E., and Mangas, J.J. 1995. Polyphenolic pattern in apple tree leaves in relation to scab resistance. A preliminary study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4: 2273-2278.
- Pinto, A.C.Q., Andrade, S.R.M., Ramos, V.H.V., and Cordeiro, M.C.R. 2004. Intervarietal hybridization in mango (*Mangifera indica* L.): Techniques, main results and their limitations. *Acta Horticulturae*, 645: 327–330.
- Ploetz, R.C. 2001. Malformation: A unique and important disease of mango, *Mangifera indica* L. *In: Fusarium: Memorial Symposium*. B. A. Summerell, J. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden and L. W. Burgess (eds.). APS Press, Minnesota, USA. pp: 233-247.
- Ploetz, R.C. 2003. Diseases of mango. *In: Diseases of Tropical Fruit Crop*. Ploetz, R.C. (Ed). CABI Publishing. London, UK. pp: 327-363.
- Ploetz, R.C., and Freeman, S. 2009. Foliar, floral and soilborne diseases. *In: The Mango, Botany, Production and Uses*. R.E. Litz (Ed.). CABI Publishing, UK. pp. 231-302.
- Ploetz, R.C., Zentmyer, G.A., Nishijima, W., Rohrbach, K., and Ohr, H.D. 1994. Compendium of Tropical Fruit Diseases. APS Press, St Paul, Minesota. USA. 118 p.
- Rymbai, H., and Rajesh, A.M. 2011. Mango Malformation: A Review. *Life Sciences Leaflets*, 22: 1079–1095.

- Sao-Jose, A.R., Souza, S.E., Vega, P.A., and Ataide, E.M. 2000. Incidence and severity of mango malformation in Bahia State, Brazil. *Acta Horticulturae*, 509: 765–767.
- Senghor, A.L., Sharma, K., Kumar, P.L., and Bandyopadhyay, R. 2012. First report of mango malformation disease caused by *Fusarium tuiense* in Senegal. *Plant Disease*, 96: 1582.
- Sharma, R.R., Goswami, M.A., Singh, N.C., Chhonkar, P.O., and Singh, G. 2001. Catecholase and cresolase activities and phenolic content in mango (*Mangifera indica* L.) at panicle initiation. *Scientia Horticulturae*, 87: 147-151.
- Soto, P.A., Santillán, M.R., Fernandez, P.S., Ploetz, R., Freeman, S., Ortega, A.R., Osuna, A.P., Velázquez, M.J., and Rodríguez, A.G. 2015. Mango nurseries as sources of *F. mexicanum* cause of mango malformation disease in central western Mexico. *Phytoparasitica*, 43: 427–435.
- SIAP-SAGARPA. 2016. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <http://siap.sagarpa.gob.mx>. (Consultado en febrero de 2016).
- Singh, V.K. 2006. Physiological and biochemical changes with special reference to mangiferin and oxidative enzymes level in malformation resistant and susceptible cultivars of mango (*Mangifera indica* L.). *Scientia Horticulturae*, 108: 43–48.
- Singh, O.P., Usha, K., Saboki, E., Srivastav, M., Dahuja, A., and Singh, B. 2012. Enzymatic reactive oxygen species (ROS) scavenging system in mango varieties resistant and susceptible to malformation. *Scientia Horticulturae*, 138: 81–89
- Taiz, L., and Zeiger, E. 2002. *Plant physiology*. 3rd Ed. Sinauer Associates. pp: 283-308.
- Treutter, D., and Feucht, W. 1990. Accumulation of flavan-3-ols in fungus-infected leaves of Rosaceae. *Journal of Plant Disease and Protection*, 97 (3): 634-641.

- Vega, P.A., y Miranda, S.M.A. 1993. Distribución, incidencia y severidad de la escoba de bruja del mango (*Mangifera indica* L.) en el Valle de Apatzingán, Michoacán. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 11: 1-4.
- Villegas, M.A., y Mora, A.J.A. 2011. Avances de la fruticultura en México. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33: 179-186.
- Zaccaro, P.R., Donadio, L.C., Macedo, L.E.G., e Percin, D. 2007. Comportamento de cultivares de manga (*Mangifera indica* L.) em relação à malformação. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29(1): 115-119.
- Zhan, R.L., Yang, S.J., Ho, H.H., Liu, F., Zhao, Y.L., Chang, J.M., and He, Y.B. 2010. Mango malformation disease in South China caused by *Fusarium proliferatum*. *Journal of Phytopathology*, 158: 721-725.

## CAPITULO I

### TOLERANCIA DE CINCO CULTIVARES DE MANGO (*Mangifera indica* L.) A

#### *Fusarium subglutinans* Y *F. mexicanum* EN MÉXICO

#### RESUMEN

La malformación vegetativa (*Fusarium* spp.) es una de las enfermedades limitativas de la producción de mango en las regiones del trópico seco, con incidencias de hasta 87% y severidad de 50%. Los daños en huertos comerciales son mayores en los cultivares monoembriónicos que en los poliembriónicos y el manejo sanitario incrementa significativamente los costos de producción. Se evaluó la tolerancia de cultivares de importancia económica nacional ('Ataúlfo' y 'Haden') y de introducción reciente ('Rosigold', 'Mallika' y 'Nam Doc Mai') a la infección por *F. subglutinans* (Fs) y *F. mexicanum* (Fm). La menor incidencia (Inc) se observó en 'Ataúlfo' (23.3%), seguido de 'Rosigold' y 'Nam Doc Mai' (40.0-43.3%) y la mayor en 'Haden' y 'Mallika' (80.0 y 93.3%). Consistentemente, 'Ataúlfo' presentó menor índice de severidad de la enfermedad (ISE= 3.6%), severidad final ( $y_f=0.6$ ), tasa de infección ( $b^{-1}=0.039$ ) e intensidad de la enfermedad (ABCPE= 0.53) ( $P\leq 0.05$ ). De acuerdo con el ISE, 'Ataúlfo' fue tolerante, 'Nam Doc Mai' y 'Rosigold' susceptibles; mientras que, 'Mallika' y 'Haden' altamente susceptibles. La combinación de aislados indujo mayor incidencia y severidad (Inc= 72%; ISE= 30.8%), que inoculados individualmente: Fs= Inc: 52%, ISE: 19.2% y Fm= Inc: 44%. ISE: 15.6% ( $P\leq 0.05$ ).

**Palabras clave:** *Mangifera indica*, *Fusarium* spp., incidencia, severidad

**TOLERANCE OF FIVE MANGO (*Mangifera indica* L.) CULTIVARS TO *Fusarium*  
*subglutinans* AND *F. mexicanum* IN MEXICO**

**ABSTRACT**

The vegetative malformation (*Fusarium* spp.) is one of the limiting diseases of mango production in dry tropic regions, with incidences up to 87% and severity 50%. In commercial orchards, the damages are higher in monoembryonic cultivars than in polyembryonic cultivars and sanitary management increases production costs. The tolerance of national economic importance cultivars ('Ataulfo' and 'Haden') and recently introduced ('Rosigold', 'Mallika' and 'Nam Doc Mai') was evaluate to infection by *F. subglutinans* (Fs) and *F. mexicanum* (Fm). The lowest incidence (Inc) was observed in 'Ataulfo' (23.3%), followed by 'Rosigold' and 'Nam Doc Mai' (40.0-43.3%) and the highest in 'Haden' and 'Mallika' (80.0 and 93.3%). Consistently, 'Ataulfo' presented lower disease severity index (DSI= 3.6%), final severity ( $y_f= 0.6$ ), infection rate ( $b^{-1}= 0.039$ ) and disease intensity (AUDPC= 0.53) ( $P\leq 0.05$ ). According to the DSI, 'Ataulfo' was tolerant, 'Nam Doc Mai' and 'Rosigold' susceptible, while 'Mallika' and 'Haden' highly susceptible. The combination of isolates induced higher incidence and severity (Inc= 72%, DSI= 30.8%) than individually inoculated: Fs= Inc: 52%, DSI: 19.2% and Fm= Inc: 44%, DSI: 15.6% ( $P\leq 0.05$ ).

**Key words:** *Mangifera indica*, *Fusarium* spp., incidence, severity

## INTRODUCCIÓN

El mango es de las principales especies tropicales cultivadas en México y el mundo. México ocupa el sexto lugar en superficie cultivada y exporta principalmente a Estados Unidos de Norteamérica, Canadá, Japón y Países bajos; en 2013 exportó 313 mil toneladas con valor de \$300 mdd (FreshPlaza, 2014). Los principales cultivares plantados en México son ‘Ataúlfo’ (26%), ‘Manila’ (18%), ‘Tommy Atkins’ (13%), ‘Haden’ (13%), ‘Kent’ (12%) y ‘Keitt’ (5%) (SIACON-SIAP, SAGARPA, 2014); se exportan en mayor volumen ‘Tommy Atkins’ (32%), ‘Ataúlfo’ (32%), ‘Kent’ (19%) y otras (17%) (EMEX A.C., 2016). El mercado internacional de cultivares amarillos se encuentra en expansión. ‘Ataúlfo’ es el único cultivar amarillo de exportación en México. Con el propósito de diversificar este mercado lucrativo, investigadores del Colegio de Postgraduados introdujeron a México los cvs. ‘Mallika’, ‘Ivory’, ‘Rosigold’, ‘Nam Doc Mai’, ‘Fairchild’, ‘Neelum’, ‘Alphonse’ y ‘Kesar’, procedentes del Fairchild Tropical Botanic Garden, Florida, EE.UU, en 2011 y 2012. Actualmente se evalúa el comportamiento agronómico y fitosanitario de estos materiales a las principales plagas de importancia económica en México (Comunicación personal<sup>3</sup>). La malformación vegetativa y floral del mango (MVF) o ‘escoba de bruja’ es una de las enfermedades severas y de difícil control en las regiones productoras del trópico seco (Ploetz, 2001; Dias *et al.*, 2003). La incidencia puede alcanzar hasta 20.5% en viveros (Soto *et al.*, 2015) y entre 15–87% en árboles adultos con severidad de 50 a 80% (Vega y Miranda, 1993; Noriega *et al.*, 1999; Kumar *et al.*, 2011). Los síntomas en tallos vegetativos consisten en pérdida de dominancia apical, así como proliferación de brotes, engrosamiento y acortamiento de entrenudos con reducción de lámina foliar. Las panículas presentan engrosamiento y entrenudos cortos de los ejes primario y secundario, proliferación de miles de flores estériles, virescencia y

---

<sup>3</sup> Dr. J. Antonio Mora A. Profesor investigador del Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, México (aguilera@colpos.mx).

filodia (Kumar *et al.*, 1993). La enfermedad puede presentarse en plantas de mango de cualquier edad en huertos comerciales o viveros. La MVF es causada por *Fusarium mangiferae*, *F. sterilihyphosum*, *F. mexicanum*, *F. tupaense*, *F. proliferatum* (Freeman *et al.*, 2014) y *F. pseudocircinatum* (García *et al.*, 2016). En México se ha reportado a *F. subglutinans* y *F. oxysporum* en los estados de Michoacán, Guerrero y Morelos (Noriega *et al.*, 1999; Mora *et al.*, 2003), *F. mexicanum* en Jalisco, Michoacán y Guerrero (Soto *et al.*, 2015) y *F. pseudocircinatum* en Guerrero, Campeche y Chiapas (Freeman *et al.*, 2014).

Para estimar la tolerancia en plantas juveniles de mango inoculadas con *Fusarium* spp., se han propuesto métodos con criterios cualitativos. Iqbal *et al.* (2006), propusieron una escala de cinco niveles con base en el tipo de síntomas de tejido malformado. Sin embargo, en la mayoría de los casos, estas escalas deben ajustarse para alcanzar mayor precisión, ya que factores como temperatura, edad, periodo de evaluación e interacción patógeno-hospedante, entre otros, pueden influir en la severidad y patrón de síntomas en las distintas regiones productoras de mango (Kumar *et al.*, 2011; Chakraborti y Kumar, 2014).

A nivel mundial, se han reportado sólo algunos cultivares con resistencia completa o baja susceptibilidad como ‘Elaichi’, ‘Bhadauran’, ‘Alfa’ y ‘Beta’; mientras que, otros han mostrado variación amplia en susceptibilidad como ‘Roxa’, ‘Lita’, ‘Zedba’, ‘Amrapali’, ‘Mallika’, ‘Neelum’, ‘Chausa’, ‘Dashehari’, ‘Bombay’, ‘Langra’, ‘Tommy Atkins’ y ‘Haden’ (Dias *et al.*, 2003; Mora *et al.*, 2003; Pinto *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2011, Singh *et al.*, 2012; Chakraborti y Kumar, 2014). En México, los daños en los cultivares monoembriónicos (‘Haden’, ‘Tommy Atkins’, ‘Kent’, entre otros) y tipos criollo son mayores en la cuenca del pacífico, donde reduce los rendimientos hasta 40-50% (Vega y Miranda, 1993; Noriega *et al.*, 1999). *Fusarium* spp., causa daños importantes en las regiones áridas y de trópico seco (Ploetz, 2001), como se ha observado

en México (Noriega *et al.*, 1999). La existencia de zonas de producción con distinta inductividad a la enfermedad (trópicos húmedo, subhúmedo y seco) dificulta el conocimiento de la tolerancia de distintos cultivares a *Fusarium* spp. Considerando que el factor sanitario está estrechamente asociado a la productividad del cultivo, es prioritario estimar de forma óptima la tolerancia de los cultivares de importancia económica, actuales e introducidos para los mercados locales y de exportación. El presente trabajo planteó evaluar la tolerancia comparativa de cultivares de mango con potencial económico nacional (cvs. ‘Ataúlfo’ y ‘Haden’) y de introducción (cvs. ‘Rosigold’, ‘Mallika’ y ‘Nam Doc Mai’) a *Fusarium* spp., con un método estandarizado que consideró la densidad de inóculo, procedimiento de inoculación y evaluación de la enfermedad, para apoyar la selección de materiales en función a la tolerancia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio y material vegetal

El estudio se realizó en un vivero cubierto con malla sombra 50%, ubicado en Huamuxtitlán, Guerrero, México (17.772, -98,556), a 903 m de altitud. Se utilizaron plantas de los cvs. ‘Ataúlfo’, ‘Haden’, ‘Mallika’, ‘Nam Doc Mai’ y ‘Rosigold’ libres de *Fusarium* spp., de seis meses, injertadas por enchapado lateral y con vigor y desarrollo fenológico similares. Las plantas experimentales se asperjaron periódicamente con dimetoato (2 mL L<sup>-1</sup>) y mancozeb (2 g L<sup>-1</sup>) para evitar contaminación por ácaros e infección superficial por hongos. El experimento constó de dos réplicas establecidas en abril y mayo de 2015. La temperatura promedio durante el periodo de evaluación fue de 23-24 °C.

### **Aislados de *Fusarium* e inóculo experimental**

Se utilizaron cultivos monospóricos de *F. subglutinans* (GUEPV-1) y *F. mexicanum* (MICHPV-4), conservados en la colección de hongos del Laboratorio de Enfermedades de Frutales, del Posgrado de Fitosanidad-Fitopatología, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, México. Los aislados identificados por análisis morfológico y molecular de la región intergénica (rDNA-IGS) 28S ribosomal (con número de accesoión KC894686 y KC894684), se incubaron en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) (BD Bioxon<sup>®</sup>, EE.UU.) por 12 días a 28°C y fotoperiodo 12:12 h de luz-oscuridad. Posteriormente se preparó una suspensión conidial de cada aislado ajustada a  $2 \times 10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  con hematocitómetro (Marienfeld<sup>®</sup>, Alemania).

### **Patogenicidad y diseño experimental**

Se seleccionaron plantas con brotes vegetativos maduros y yemas apicales latentes y desinfectaron (meristemas, hojas y tallo) con hipoclorito de sodio al 3% y lavaron tres veces con agua destilada estéril con aspensor manual (500 mL). Se utilizó un diseño en parcelas divididas en bloques completos aleatorizados, siendo la parcela principal los cultivares de mango y las subparcelas los tratamientos de inoculación: 1) *F. subglutinans*, 2) *F. mexicanum*, 3) combinación de *F. subglutinans* y *F. mexicanum* y 4) agua destilada estéril (control). Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones y la unidad experimental fue un brote por planta. La inoculación se realizó por infiltración de 100  $\mu\text{L}$  de una suspensión conidial ( $2 \times 10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ ) con jeringa hipodérmica estéril en la base de la yema apical y primeras tres yemas axilares subapicales, en plantas control se infiltró agua estéril (García *et al.*, 2016). Los brotes inoculados se protegieron con bolsa de plástico transparente para evitar contaminación y conservar la humedad relativa durante los primeros seis días. Al término del experimento, en marzo de 2016, los hongos inoculados se

reaislaron de los tejidos infectados y las colonias y estructuras reproductivas se compararon con las colonias infiltradas.

### Variables y análisis estadístico

**Parámetros sanitarios:** Cada 35 días después de la inoculación (ddi) se registró el periodo de incubación (PI), incidencia (%) y severidad de plantas con síntomas de malformación vegetativa, está última estimada en los niveles de daño propuesto por Kumar y Beniwal (1992), ajustando los niveles de intensidad y tipo de síntoma (Tabla 1) para este estudio. Adicionalmente se calculó el índice de severidad de la enfermedad (ISE) con la fórmula  $ISE = \frac{([D1+D2]/[T1+T2])/2}{100} \times 100$ , adaptada de Kumar y Beniwal (1992); donde D1 y D2 representaron el nivel promedio de severidad de la enfermedad por planta infectada/ cultivar en la primera y segunda replica experimental, respectivamente, según el nivel de severidad la Tabla 1; mientras que T1 y T2, consideraron el número total de plantas evaluadas por experimento.

**Tabla 1.** Escala de severidad para evaluación de la malformación vegetativa (*Fusarium* spp.) del mango (*Mangifera indica* L.).

Nivel	Descripción de síntomas	Índice de severidad (%)	Reacción (severidad)
0	Presencia de dominancia apical y ausencia de brotación lateral.	0	Inmune o resistente
1	Presencia de dos tallos con dominancia apical; sin yemas axilares prominentes.	0.1-1.0	Moderadamente resistente
3	Presencia de uno o dos tallos con yemas axilares prominentes (abultadas o globosas).	1.1-10.0	Tolerante
5	Proliferación moderada de uno a dos tallos que emergen del mismo punto con entrenudos cortos y engrosamiento de la base del tallo o ápice.	10.1-20.0	Susceptible
7	Pérdida de dominancia apical, entrenudos cortos, proliferación excesiva (conglomerado de tejido o arrosado) y hojas pequeñas.	>20.1	Altamente susceptible

**Incidencia de la malformación vegetativa y floral en campo:** Para verificar la susceptibilidad estimada experimentalmente, en 2016 se evaluó la incidencia de la enfermedad en seis huertos comerciales plantados con los cvs. ‘Ataúlfo’ y ‘Haden’ en marco real 10x10 m y densidad de plantación de 100 árboles/ ha, en Huamuxtitlán, Guerrero, México. Se seleccionaron cinco árboles enfermos/ huerto, y por árbol cuatro ramas estructurales orientadas cada una en los cuatro puntos cardinales de la copa del árbol. La incidencia se determinó con base a la proporción (%) de brotes vegetativos e inflorescencias sanas y enfermas apicales presentes en aproximadamente 2 m<sup>2</sup> de follaje por rama estructural.

**Crecimiento de la planta:** Para determinar el efecto de la infección en el desarrollo fisiológico de plantas inoculadas se registró el número de hojas y longitud (cm) del siguiente flujo de crecimiento que inició a partir de la yema apical infiltrada; los valores se correlacionaron con la severidad/ tratamiento.

**Análisis estadístico:** Los valores de incidencia, severidad, número de hojas y longitud de brotes nuevos, se analizaron con diseño estadístico en parcelas divididas con el modelo lineal general (GLM). La severidad se analizó con el modelo de distribución Weibull ajustado a los parámetros  $b^{-1}$  y  $c$ , donde la tasa de infección aparente se estima por el inverso del parámetro  $b$  y la forma de la curva se estima por el parámetro  $c$ ; ambas con la instrucción PROC NLIN de SAS, ver. 9.0 (Pennypeker *et al.*, 1980; Mora *et al.*, 1996). Adicionalmente, se obtuvo el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) del modelo. La intensidad de epidemias se estimó mediante el cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) obtenida por el método de integración trapezoidal (Campbell y Madden, 1990). La media de los cultivares y tratamientos se separaron con la prueba diferencia mínima significativa (DMS,  $P \leq 0.05$ ) usando el paquete estadístico SAS.

## RESULTADOS

### Síntomas

*F. subglutinans* (Fs) y *F. mexicanum* (Fm) indujeron síntomas y severidad contrastantes en los cultivares evaluados. ‘Ataúlfo’ fue tolerante y mostró únicamente yemas axilares hinchadas o globosas en los dos flujos de crecimiento posteriores al sitio inoculación; mientras que, ‘Rosigold’ y ‘Nam Doc Mai’ expresaron proliferación moderada del tallo (fasciculación), con entrenudos cortos y engrosamiento de la base del tallo. ‘Mallika’ y ‘Haden’, más susceptibles, tuvieron pérdida de dominancia apical, entrenudos cortos, engrosados y proliferación excesiva de brotes con reducción de lámina foliar que formaron masas compactas de tejido vegetativo (Figura 1, Tabla 2). Las plantas control fueron asintomáticas. Los síntomas vegetativos iniciales se observaron en el flujo de crecimiento posterior a la inoculación; sin embargo, algunas plantas expresaron mayor severidad en el segundo flujo de crecimiento, de acuerdo a la escala utilizada (Tabla 1).

### **Incidencia, severidad, periodo de incubación y análisis temporal**

La menor incidencia (Inc) en plantas inoculadas se observó en ‘Ataúlfo’ (23.3%), seguido de ‘Rosigold’ y ‘Nam Doc Mai’ (40.0-43.3%) y la mayor en ‘Haden’ y ‘Mallika’ (altamente susceptibles, Inc= 80.0 y 93.3%). Consistentemente, ‘Ataúlfo’ presentó menor índice de severidad (ISE= 3.6%), severidad final ( $Y_f= 0.6$ ), tasa de infección ( $b^{-1}= 0.039$ ) e intensidad de la enfermedad (ABCPE= 0.53) respecto al resto de los cultivares evaluados ( $P \leq 0.05$ ) (Tablas 2 y 3). De acuerdo con el ISE, ‘Ataúlfo’ fue tolerante, ‘Nam Doc Mai’ y ‘Rosigold’ susceptibles y ‘Mallika’ y ‘Haden’ altamente susceptibles. La combinación de aislados indujo más plantas enfermas (Inc= 72%) y severidad (ISE= 30.8%) que inoculados individualmente en todos los cultivares, Fs (Inc= 52%, ISE= 19.2%) y Fm (Inc= 44%, ISE= 15.6%) ( $P \leq 0.05$ ) (Tabla 2).



**Figura 1.** Síntomas y nivel de daño de la malformación vegetativa (*Fusarium subglutinans* y *F. mexicanum*) en cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.). Brote sano con dominancia apical (a); brotes con síntomas: yema hinchada (yh), engrosamiento de la base del tallo (et), proliferación excesiva (pe). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

**Tabla 2.** Índice de severidad, incidencia y periodo de incubación de plantas inoculadas con *Fusarium subglutinans* y *F. mexicanum* en cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

Cultivar	Tratamiento	Severidad		ISE (%)	Incidencia (%)	Periodo de incubación (d)
		1 <sup>x</sup>	2 <sup>x</sup>			
‘Haden’	<i>F. subglutinans</i>	4	4	40	80	157
	<i>F. mexicanum</i>	3	3.2	31	70	179
	Combinación de aislados	4.4	6.2	53	90	168
	Promedio	3.80 a	4.47 a	<b>41.33 a</b>	<b>80.00 a</b>	<b>168 b</b>
‘Mallika’	<i>F. subglutinans</i>	3.4	3.8	36	100	168
	<i>F. mexicanum</i>	2.2	3.8	30	80	172
	Combinación de aislados	5.8	4.6	52	100	176
	Promedio	3.80 a	4.07 a	<b>39.33 a</b>	<b>93.33 a</b>	<b>172 b</b>
‘Nam Doc Mai’	<i>F. subglutinans</i>	0.4	1	7	30	199
	<i>F. mexicanum</i>	1.2	0.8	10	40	198
	Combinación de aislados	2.8	1.6	22	60	188
	Promedio	1.47 b	1.13 b	<b>13.00 b</b>	<b>43.33 b</b>	<b>195 b</b>
‘Rosigold’	<i>F. subglutinans</i>	0.6	1.2	9	30	176
	<i>F. mexicanum</i>	1	0.2	6	20	176
	Combinación de aislados	1.6	2.6	21	70	185
	Promedio	1.07 b	1.33 b	<b>12.00 b</b>	<b>40.00 bc</b>	<b>179 b</b>
‘Ataúlfo’	<i>F. subglutinans</i>	0	0.8	4	20	260
	<i>F. mexicanum</i>	0	0.2	1	10	275
	Combinación de aislados	0.2	1	6	40	266
	Promedio	0.07 b	0.67 b	<b>3.67 c</b>	<b>23.33 c</b>	<b>267 a</b>
DMS		1.46	1.06	7.79	17.86	27.2

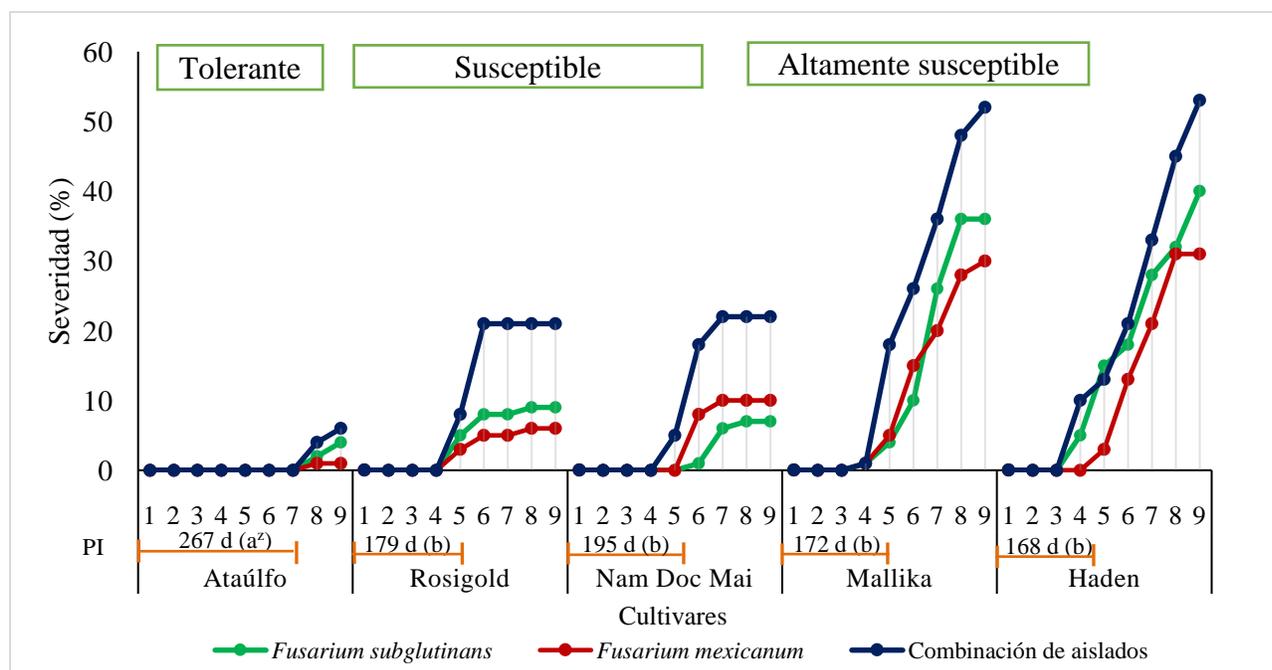
<sup>x</sup>= Experimento 1 y 2; <sup>z</sup>= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

El periodo de incubación (PI) hasta síntomas de típicos de proliferación, fue mayor en ‘Ataúlfo’ (267 d) que en el resto de los cultivares (168-198 d) ( $P \leq 0.05$ ) (Tabla 2, Figura 2). Las curvas de severidad se describieron con el modelo de distribución Weibull (Figura 2). En general, las epidemias tuvieron  $r^2 \geq 0.979$  (Tabla 3).

**Tabla 3.** Análisis de parámetros epidemiológicos de las curvas del progreso de incidencia y severidad de la malformación vegetativa en cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) inoculados con *Fusarium* spp. Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

Variables		Parámetros de análisis temporal					
Incidencia	Cultivar	y <sub>0</sub>	y <sub>f</sub>	c	1/b	r <sup>2</sup>	ABCPE
		‘Haden’	0.0 a <sup>z</sup>	80.0 a	4.68 ab	0.167 a	0.932 b
	‘Mallika’	0.0 a	<b>93.3 a</b>	5.51 ab	<b>0.168 a</b>	0.974 a	<b>343.3 a</b>
	‘Nam Doc Mai’	0.0 a	43.3 b	3.75 b	0.101 b	0.877 c	131.7 b
	‘Rosigold’	0.0 a	40.0 bc	3.69 b	0.093 b	0.837 d	136.7 b
	‘Ataúlfo’	0.0 a	<b>23.3c</b>	6.45 a	<b>0.049 c</b>	0.836 d	<b>35.0 c</b>
	DMS	0	17.86	2.37	0.025	0.036	77.93
Severidad	‘Haden’	0.0 a	<b>13.73 a</b>	3.99 b	<b>0.068 a</b>	0.994 a	<b>27.76 a</b>
	‘Mallika’	0.0 a	13.1 a	4.41 b	0.070 a	0.993 a	24.95 a
	‘Nam Doc Mai’	0.0 a	5.2 b	4.02 b	0.051 b	0.981 b	9.67 b
	‘Rosigold’	0.0 a	4.93 b	4.04 b	0.048 b	0.979 b	11.6 b
	‘Ataúlfo’	0.0 a	<b>0.6 c</b>	9.15 a	<b>0.039 c</b>	0.980 b	<b>0.53 c</b>
	DMS	0	3.44	1.53	0.0065	0.0069	8.96

<sup>z</sup>= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).



**Figura 2.** Progreso temporal no acumulado de la severidad media en plantas de mango inoculadas con *Fusarium subglutinans*, *F. mexicanum* y combinación de aislados en cinco cultivares de mango. PI: Periodo de incubación promedio/cultivar; 1-9: Fecha de evaluación cada 35 días; <sup>z</sup>= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

## Crecimiento de la planta

No se observaron diferencias significativas en el número de hojas/brote en plantas inoculadas (Tabla 4) ( $P \leq 0.05$ ). Los cvs ‘Haden’, ‘Mallika’ y ‘Nam Doc Mai’ mostraron menor longitud en las plantas inoculadas respecto a las plantas testigo. En ‘Ataúlfo’ y ‘Rosigold’ los brotes fueron similares al testigo (Tabla 5). Además la longitud de brotes tuvo baja relación con la severidad ( $R^2 = 0.68$ ) (Figura 3).

**Tabla 4.** Promedio del número de hojas del último flujo de crecimiento en plantas inoculadas con *Fusarium* spp., en cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

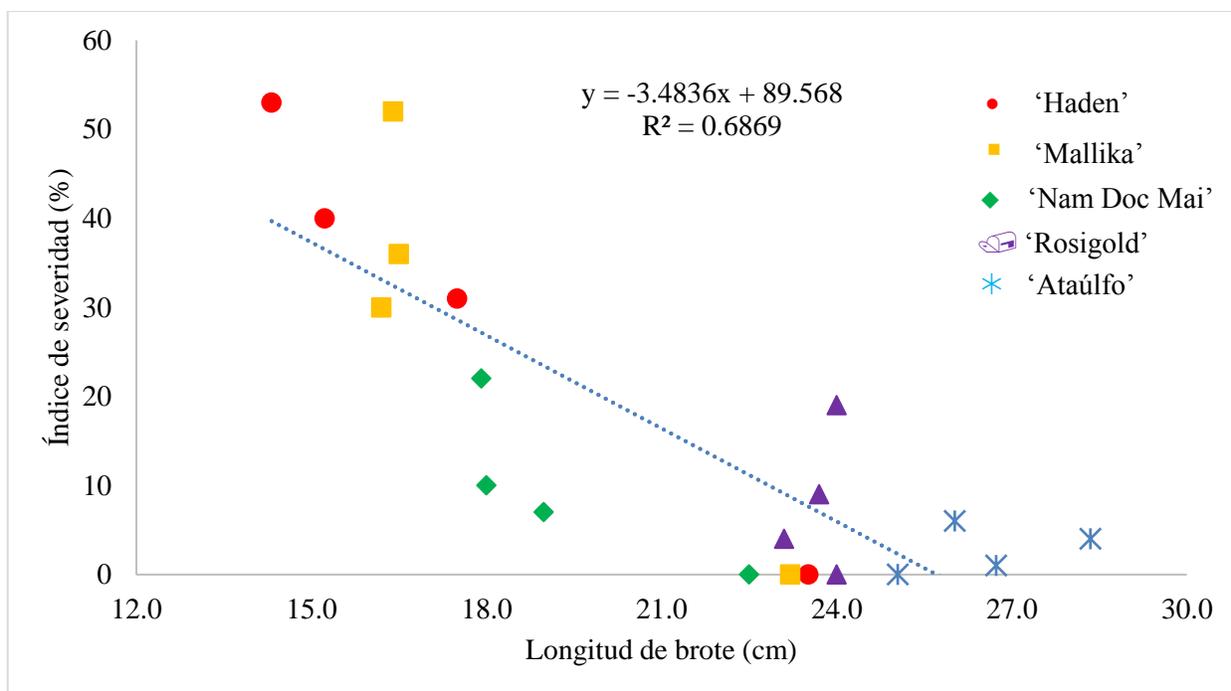
Cultivar	Tratamientos			
	<i>F. subglutinans</i>	<i>F. mexicanum</i>	Combinación de aislados	Control
‘Haden’	11 a <sup>z</sup>	12 a	12 a	13 a
‘Mallika’	10 a	10 a	10 a	12 a
‘Nam Doc Mai’	12 a	11 a	11 a	13 a
‘Rosigold’	10 a	11 a	12 a	12 a
‘Ataúlfo’	12 a	13 a	11 a	12 a

<sup>z</sup>= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ )

**Tabla 5.** Promedio de la longitud del último flujo de crecimiento en planta inoculadas con *Fusarium* spp., en cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

Cultivar	Tratamientos			
	<i>F. subglutinans</i>	<i>F. mexicanum</i>	Combinación de aislados	Control
‘Haden’	15.2 c <sup>z</sup>	17.5 b	14.3 b	23.5 a
‘Mallika’	16.5 c	16.2 b	16.4 b	23.2 a
‘Nam Doc Mai’	19.0 c	18.0 b	17.9 b	22.5 a
‘Rosigold’	23.7 b	23.1 a	24.0 a	24.0 a
‘Ataúlfo’	28.4 a	26.7 a	26.0 a	25.1 a

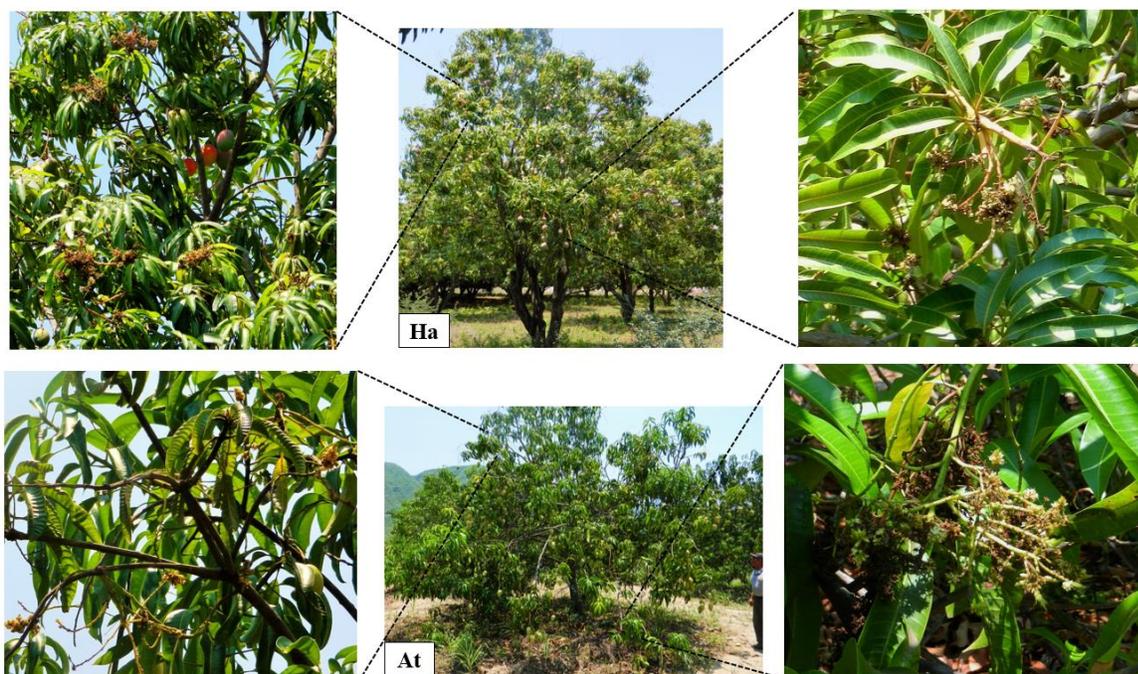
<sup>z</sup>= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ )



**Figura 3.** Relación longitud del brote con el índice de severidad en plantas de mango (*Mangifera indica* L.) inoculados con *Fusarium* spp. Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

### **Incidencia de malformación vegetativa y floral en huertos comerciales**

La incidencia en brotes vegetativos de plantas comerciales fluctuó entre 1.4 y 54.6%; fue mayor en el cv. 'Haden' tanto en brotes vegetativos ( $3.9 \pm 0.4\%$ ) como florales ( $33.43 \pm 21.25\%$ ), en comparación con 'Ataúlfo' ( $0.46 \pm 0.8$  y  $2.9 \pm 0.8\%$ ) ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 4; Tabla 6).



**Figura 4.** Árboles de mango cvs. ‘Haden’ (Ha) y ‘Ataúlfo’ (At), en huertos comerciales, con síntomas de malformación floral (*Fusarium* spp.), en Huamuxtitlán, Guerrero, México. 2016.

**Tabla 6.** Incidencia de malformación vegetativa y floral (*Fusarium* spp.) en huertos comerciales de mango cvs. ‘Ataúlfo’ y ‘Haden’ en Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2016.

Cultivar / Huerto	Localización	Número de brotes		Brotes con malformación (%)	
		Vegetativo	Panícula	Vegetativo	Panícula
‘Ataúlfo’	1 17°46'19.76" N; 98°34'32.7" O	1472	333	0 a <sup>z</sup>	2.6 (10) a
	2 17°46'13.86" N; 98°34'27.34" O	896	347	0 a	3.8 (15) a
	3 17°46'20.45" N; 98°33'22.4" O	440	112	1.4 (5) a	2.3 (4) a
	Promedio	<b>936</b>	<b>264</b>	<b>0.46 b</b>	<b>2.9 b</b>
‘Haden’	1 17°46'47.68" N; 98°34'28.64" O	1615	313	4.1 (67) a	12.1 (40) b
	2 17°46'14.62" N; 98°33'24.22" O	1220	243	3.4 (42) a	54.6 (100) a
	3 17°46'19.42" N; 98°33'22.0" O	611	125	4.2 (26) a	33.6 (41) ab
	Promedio	<b>1148.7</b>	<b>227.0</b>	<b>3.9 a</b>	<b>33.43 a</b>

<sup>z</sup> = Medias con diferente letra son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

La malformación vegetativa y floral (MVF) del mango es una enfermedad causada por un complejo de especies del género *Fusarium* y destaca como una limitante severa en el trópico seco de México (Noriega *et al.*, 1999; Mora *et al.*, 2003). En esta investigación, los cultivares mostraron respuesta diferenciada en susceptibilidad, siendo ‘Ataúlfo’ tolerante. Pocos cultivares se han reportado como inmunes o altamente tolerantes como ‘Elaichi’, ‘Bhadauran’, ‘Alfa’ y ‘Beta’ (Pinto *et al.*, 2004; Singh *et al.*, 2012). Además, la inoculación combinada de *Fusarium subglutinans* y *F. mexicanum* (30.8%) incrementó la severidad. Asimismo, la escala propuesta permitió estimar niveles de tolerancia de los diferentes cultivares (Tabla 1, Figura 1). El síndrome típico se observó en los cultivares altamente susceptibles, ‘Haden’ y ‘Mallika’, con pérdida de dominancia apical, fasciculación y entrenudos cortos que causan achaparramiento con proliferación de hojas pequeñas (Figura 1), éstos síntomas fueron similares a los reportados por Zhan *et al.* (2010) y Soto *et al.* (2015). Aun cuando, ‘Mallika’, ‘Nam Doc Mai’ y ‘Rosigold’ fueron susceptibles, éstos pueden tener excelente comportamiento productivo en regiones del trópico seco mediante manejo integrado del cultivo, o establecerse en regiones húmeda y subhúmedas donde *Fusarium spp.*, presenta aptitud epidémica limitada.

Los periodos de incubación (y otros parámetros asociados) reflejaron el grado de susceptibilidad y fue prolongado en el cultivar tolerante. El PI, en ‘Ataúlfo’ (Inc= 23.3; ISE= 3.6%) fue de 267 ddi (Figura 2), mientras que en los cultivares susceptibles ‘Haden’ (Inc= 80.0%; ISE= 41.3%) y ‘Mallika’ (Inc= 93.3%; ISE= 39.3%) fueron de 168 y 172 ddi. Estudios previos consignan la susceptibilidad alta de ‘Haden’ y ‘Mallika’ en Brasil e India, respectivamente (Dias *et al.*, 2003; Chakraborti y Kumar, 2014). En México, también se confirmó la mayor tolerancia de ‘Ataúlfo’ (PI= 164-231 ddi) y la susceptibilidad alta de ‘Haden’ y ‘Cotaxtla’ (PI= 90-176 ddi) cuando se

inocularon con la combinación de *Fusarium* spp. (García, 2012). Aun cuando, ‘Nam Doc Mai’ fue susceptible (ISE= 13%) en este estudio, Augustyn *et al.* (2014), lo clasificaron como resistente al complejo *F. subglutinans*, *F. proliferatum* y *F. fujikuroi*, evidenciando el comportamiento diferencial que puede tener el cultivar dependiendo de las especies que pueden estar involucradas en la infección o la región. Adicionalmente, los PI pueden variar según la especie inoculada de *Fusarium*, se han observado periodos de 90-210, 90-120 y 330 ddi en plantas infiltradas con *F. mangiferae*, *F. proliferatum* y *F. pseudocircinatum* (Iqbal *et al.*, 2006; Zhan *et al.*, 2010; García *et al.*, 2016). Estos resultados reflejan la variabilidad genética del hospedante y la compleja interacción mango–*Fusarium*, ya que las condiciones climáticas, virulencia del patógeno y genotipos de mango pueden modificar el desarrollo de la enfermedad (Kumar *et al.*, 2011; Chakraborti y Kumar, 2014). Adicionalmente, el grado de madurez de las yemas por inocular puede influir en los PI y prolongarse si las plantas se inoculan (yemas latentes) al inicio de la etapa de quiescencia natural de las plantas. De acuerdo con Yadava y Singh (1995) y Singh *et al.* (2012), las diferencias fisiológicas (tasa fotosintética, transpiración, conductancia y resistencia estomática) y bioquímicas (mangiferina, compuestos fenólicos o enzimas) determinan la intensidad de daño de la MVF en diferentes cultivares de mango.

Las curvas de severidad de los cultivares inoculados con Fs y Fm, se describieron con el modelo de distribución Weibull; la tasa de infección aparente fue significativamente menor en ‘Ataúlfo’ (0.039) en comparación con ‘Mallika’ (0.07) y ‘Haden’ (0.068), con coeficiente de determinación ( $r^2$ ) de 0.979 a 0.994. Estos parámetros pueden determinar el comportamiento dinámico de la enfermedad, debido a la susceptibilidad del hospedante, agresividad del patógeno y condiciones ambientales favorables (Campbell y Madden, 1990; Mora *et al.*, 1996). El cv. ‘Ataúlfo’ fue tolerante y mostró menor intensidad de la enfermedad (ABCPE= 0.53), severidad final ( $y_f$ = 0.6) y

tasa de infección ( $b^{-1} = 0.039$ ) (Tabla 3). Estos parámetros epidemiológicos permiten clasificar diferentes aislados por agresividad y virulencia (Barbosa *et al.*, 2011), además, los valores bajos están relacionados con la menor agresividad (Kranz, 1988).

Las especies de *Fusarium* influyeron parcialmente en el crecimiento longitudinal promedio de los brotes vegetativos ( $r^2 = 0.68$ ), siendo mayor en ‘Ataúlfo’. En este cultivar los tallos se caracterizaron por entrenudos de 27-28 cm/ brote de longitud normal y fueron similares al testigo, engrosamiento moderado, así como escasas yemas axilares que permanecieron hinchadas o globosas y sin proliferar (Figura 1). En contraste, en los cultivares susceptibles (‘Mallika’ y ‘Haden’) entrenudos cortos, engrosamiento severo y proliferaciones masivas causaron achaparramiento (14-19 cm/ brote) de los tallos (Kumar *et al.*, 1993). También se ha observado que la MVF en algunos cultivares modifica la morfología y dimensiones anatómicas de las yemas apicales e intercalares al incrementar el diámetro pero no la longitud (Pandey *et al.*, 2002). Es importante considerar que la intensidad del crecimiento vegetativo también depende del cultivar, tipo de yemas (axilar o apical), manejo agronómico y clima (Nuñez y Davenport, 1995; Davenport, 2009). Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas en el número de hojas/brote ( $P \leq 0.05$ ).

La incidencia en campo confirmó los resultados obtenidos en vivero y mostró que los árboles del cv. ‘Haden’ son más afectados (12.1-54.6%) que ‘Ataúlfo’ (2.3-3.8%). Se observó mayor número de brotes florales que vegetativos, este aspecto estuvo en función de la fecha evaluación (fenología estacional). En Michoacán, la incidencia en ‘Haden’ fluctúa entre 15 y 87%, con promedio regional de 47% (Vega y Miranda, 1993) y puede reducir el rendimiento hasta 40% (Noriega *et al.*, 1999) en algunas regiones productoras del trópico seco del pacífico.

El cv. ‘Ataúlfo’ se sugiere como fuente de resistencia o considerarse en un programa de manejo integrado. ‘Haden’ y ‘Mallika’ pueden constituirse como excelentes tratamientos (susceptible) de control para estudios posteriores de tolerancia. Esta investigación consigna por primera vez la susceptibilidad de ‘Rosigold’ y ‘Nam Doc Mai’ a Fs y Fm. Considerando que los cultivares de reciente introducción representan potencial de exportación para México se requiere generar tecnologías de cultivo de carácter integral (uso de planta certificada, poda sanitaria y quema de residuos infectados, uso de plaguicidas con criterios epidemiológicos y desinfección de herramientas de corte en huertos y viveros), que permitan mitigar los daños de MVF para observar el potencial productivo.

## REFERENCIAS

- Augustyn, W.A, Regnier, T., Combrinck, S., and Botha, B.E. 2014. Metabolic profiling of mango cultivars to identify biomarkers for resistance against *Fusarium* infection. *Phytochemistry Letters*, 10: civ-cx.
- Barbosa, S.E., Michereff, S.J., Andrade, T.L., y Ramos, M.R.L. 2011. Caracterización de aislamientos de *Ralstonia solanacearum* con base en componentes epidemiológicos. *Interciencia*, 36(4): 281-285.
- Campbell, C.L., and Madden, V.L. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York, USA. John Wiley and Sons Inc.
- Chakraborti, K., and Kumar, M.D. 2014. Evaluation of taxa for tolerance against floral malformation in Gangetic West Bengal. *Universal Journal of Plant Science*, 2(2): 27-30.
- Davenport, T.L. 2009. Reproductive physiology. In: Litz, RE (Ed.) *The mango: Botany, Production and Uses*. 2nd Edition. London, UK. CABI Publishing. pp. 97-169.

- Dias, N.O., Rodrigues, V. M.T., Eloy, V.A., Hojo, R.T.N., Rebouças, S.J.A., Castellani, B.M.A., Pereira, B.M., e Lopes, R.A.E. 2003. Incidência e severidade da malformação floral em seis cultivares de mangueira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(1): 179-180.
- EMEX A.C. 2016. Resumen de cajas exportadas temporada 2016. *Revista Evolucionaria* 4ta Ed. Año 2. Disponible en: <http://www.mangoemex.com/revista.html>
- Freeman, S., Otero, C.G., Rodríguez, A.G., Fernández, P.S., Maymon, M., Ploetz, R.C., Aoki, T., and O'Donnell, K. 2014. First report of mango malformation disease caused by *Fusarium pseudocircinatum* in Mexico. *Plant Disease*, 98(11): 1583.
- FreshPlaza. 2014. Estabilidad en el comercio mundial del mango. Disponible en: <http://www.freshplaza.es/article/82752/Estabilidad-en-el-comercio-mundial-de-mango>
- García, L.E. 2012. Tolerancia de cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) a la proliferación vegetativa y floral (*Fusarium* spp.) en México. Tesis Maestría. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México, México.
- García, L.E., Mora, A.J.A., Nava, D.C., Villegas, M.A., Tovar, P.J.M., Serra, C.A., and Batista, M.C.M. 2016. First report of *Fusarium pseudocircinatum* causing mango malformation disease in Dominican Republic. *Plant Disease*, 100(7): 1501.
- Iqbal, Z., Rehman, M., Dasti, A.A., Saleem, A., and Zafar, Y. 2006. RAPD analysis of *Fusarium* isolates causing mango malformation disease in Pakistan. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22: 1161-1167.
- Kumar, J., and Beniwal, S.P.S. 1992. Mango malformation. In: Kumar J, Chaube HS, Singh US, Mukhopandhyay NA (Eds.) *Plant Disease of International Importance: Disease of Fruit Crops* (Vol. III), New Jersey. USA. Prentice-Hall. pp. 357-393.

- Kumar, J., Singh, U.S., and Beniwal, S.P.S. 1993. Mango malformation: One hundred years of research. *Annual Review of Phytopathology*, 31: 217-232.
- Kumar, P., Misra, A.K., and Modi, D.R. 2011 Current status of mango malformation in India. *Asian Journal of Plant Sciences*, 10: 1-23.
- Kranz, J. 1988. Measuring plant disease. *In*: Kranz J, Rotem J (Eds.). *Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology*. Berlin, Germany. Springer. pp: 35- 49.
- Mora, A.A., Téliz, O.D., Mora, A.G., Sánchez, G.P., y Mercado, J.J. 2003. Progreso temporal de “escoba de bruja” (*Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*) en huertos de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21: 1-12.
- Mora, A.G., Nieto, A.D., Campbell, L.C., Téliz, O.D., García, and P.E. 1996. Multivariate comparison of papaya ringspot epidemics. *Phytopathology*, 86: 70-78.
- Noriega, C.D.H., Téliz, O.D., Mora, A.G., Rodríguez, A.J., Zavaleta, M.E., Otero, C.G., and Lee, C.C. 1999. Epidemiology of mango malformation in Guerrero, Mexico with traditional and integrated management. *Plant Disease*, 83: 223-228.
- Núñez, E.R., and Davenport, T.L. 1995. Effect of leaf age, duration of cool temperature treatment, and photoperiod on bud dormancy release and floral initiation in mango. *Scientia Horticulturae*, 62: 63–73.
- Pandey, D., Pandey, S.N., and Singh, O.P. 2002. Bud morphology and expression of floral malformation in mango (*Mangifera indica*). *Indian Journal of Horticulture*, 59: 275–278.
- Pennypecker, S.P., Knoble, H.D., Antle, C.D., and Madden, L.V. 1980. A flexible model for studying plant disease progression. *Phytopathology*, 70: 232-235.

- Pinto, A.C.Q., Andrade, S.R.M., Ramos, V.H.V., and Cordeiro, M.C.R. 2004. Intervarietal hybridization in mango (*Mangifera indica* L.): Techniques, main results and their limitations. *Acta Horticulturae*, 645: 327–330.
- Ploetz, R.C. 2001. Malformation: A unique and important disease of mango, *Mangifera indica* L. *In*: Summerell BA, Leslie JF, Backhouse D, Bryden WL, Burgess WL (Eds.) *Fusarium: Memorial Symposium*. St. Paul, Minnesota. APS Press. pp. 233-247.
- Singh, O.P., Usha, K., Saboki, E., Srivastav, M., Dahuja, A., and Singh, B. 2012. Enzymatic reactive oxygen species (ROS) scavenging system in mango varieties resistant and susceptible to malformation. *Scientia Horticulturae*, 138: 81–89.
- SIACON-SIAP, SAGARPA. 2016. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <http://siap.sagarpa.gob.mx>. Consultado en Febrero 26, 2016.
- Soto, P.A., Santillán, M.R., Fernández, P.S., Ploetz, R., Freeman, S., Ortega, A.R., Osuna, A.P., Velázquez, M.J., and Rodríguez, A.G. 2015. Mango nurseries as sources of *F. mexicanum* cause of mango malformation disease in central western Mexico. *Phytoparasitica*, 43: 427–435.
- Vega, P.A., y Miranda, S.M.A. 1993. Distribución, incidencia y severidad de la escoba de bruja del mango (*Mangifera indica* L.) en el Valle de Apatzingán, Michoacán. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 11: 1-4.
- Yadava, R.B.R., and Singh, V.K. 1995. Extent of floral malformation and its relationship with physiochemical components in mango cultivars. *Indian Journal Plant Physiology*, 38: 328-330.
- Zhan, L., Yang, J., Ho, H., Liu, F., Zhao, L., Chang, M., and He, B. 2010. Mango malformation disease in South China caused by *Fusarium proliferatum*. *Journal Phytopathology*, 158: 721-725.

## CAPITULO II

### TOLERANCIA DE CINCO CULTIVARES DE MANGO A *Fusarium* spp. ASOCIADA A MANGIFERINA Y ÁCIDOS FENÓLICOS

#### RESUMEN

La malformación vegetativa del mango es una enfermedad causada por un complejo de especies del género *Fusarium*, de alto impacto económico y difícil control en las regiones productoras del trópico seco. En algunos cultivares, la tolerancia puede estar asociada a fitoalexinas y compuestos fenólicos con actividad antimicrobiana, cuya evaluación es relevante para elegir los cultivares en función de la aptitud epidémica del patógeno en regiones agroecológicas específicas. Se documentaron las concentraciones de mangiferina y ácidos clorogénico, gálico, ferúlico, cafeico y p-hidroxibenzoico, periodos de incubación (PI), incidencia (Inc) e índice de severidad de la enfermedad (ISE) en respuesta a la infección de *F. mexicanum* y *F. subglutinans* en los cvs. ‘Ataúlfo’, ‘Haden’, ‘Rosigold’, ‘Mallika’ y ‘Nam Doc Mai’. Los cultivares mostraron respuesta diferenciada en susceptibilidad. ‘Ataúlfo’ fue tolerante y mostró el PI (267 d) más prolongado, pero Inc (23.3%) e ISE (3.67%) bajos. ‘Nam Doc Mai’ y ‘Rosigold’ fueron susceptibles, mientras que ‘Mallika’ y ‘Haden’ altamente susceptibles; en estos cultivares los valores de PI fueron cortos (168-195 d), y la Inc (40-93.3%) e ISE (12-41.3%) mayores. Las concentraciones y fluctuación de los ácidos fenólicos fueron variables según el cultivar. En ‘Ataúlfo’, ‘Nam Doc Mai’ y ‘Rosigold’ se observó incremento rápido de la mangiferina y los ácidos clorogénico y gálico en los siete días después de inoculación. ‘Ataúlfo’ presentó el mayor contenido de mangiferina y ácidos clorogénico, cafeico, ferúlico y p-hidroxibenzoico (27.74, 1.564, 0.209, 0.347 y 0.214  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco); mientras que, en ‘Haden’ y ‘Mallika’ las concentraciones de mangiferina (7.87 y 12.61  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) y los cinco ácidos fenólicos (1.57 y 1.98  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) fueron inferiores a las registradas en plantas testigo. *In vitro*, la mangiferina inhibió el crecimiento micelial de *Fusarium* spp., con una concentración efectiva media de 747.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

**Palabras clave:** *Mangifera indica*, *Fusarium* spp., ácidos fenólicos, mangiferina, tolerancia

# TOLERANCE OF FIVE MANGO CULTIVARS TO *Fusarium* spp. ASSOCIATED WITH MANGIFERINE AND PHENOLIC ACIDS

## ABSTRACT

The vegetative malformation of the mango is a disease caused by a complex of species of the genus *Fusarium*, high economic impact and difficult control in the producing regions of the dry tropic. In some cultivars, tolerance may be associated with phytoalexins and phenolic compounds with antimicrobial activity, whose evaluation is important to choose cultivars based on the epidemic fitness of the pathogen in specific agro-ecological regions. Concentrations mangiferin and chlorogenic, gallic, ferulic, caffeic and p-hydroxybenzoic acids, incubation periods (IP), incidence (Inc) and disease severity index (ISE) were documented in response to *F. mexicanum* and *F. subglutinans* infection in cvs. 'Ataulfo', 'Haden', 'Rosigold', 'Mallika' and 'Nam Doc Mai'. The cultivars showed differentiated response in susceptibility. 'Ataulfo' was tolerant and showed the IP (267 d) longer, but Inc (23.3%) and ISE (3.67%) low. 'Nam Doc Mai' and 'Rosigold' were susceptible, while 'Mallika' and 'Haden' highly susceptible, in these cultivars IP values were short (168-195 d), and Inc (40-93.3%) and ISE (12-41.3%) higher. The concentrations and fluctuation of phenolic acids were variable according to the cultivar. In 'Ataulfo', 'Nam Doc Mai' and 'Rosigold' there was a rapid increase of mangiferin and chlorogenic and gallic acids within seven days after inoculation. 'Ataulfo' presented the highest content of mangiferin and chlorogenic, caffeic, ferulic and p-hydroxybenzoic acids (27.74, 1.564, 0.209, 0.347 and 0.214  $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight), while the concentrations of mangiferin (7.87 and 12.61  $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight) and the five phenolic acids (1.57 and 1.98  $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight) in 'Haden' and 'Mallika' were lower than those recorded in control plants. *In vitro*, mangiferin inhibited the mycelial growth of *Fusarium* spp., means effective concentration of 747.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

**Key words:** *Mangifera indica*, *Fusarium* spp., phenolic acids, mangiferin, tolerance

## INTRODUCCIÓN

La malformación vegetativa y floral del mango (MVF) o “escoba de bruja” es una de las enfermedades severas y difícil control en las regiones productoras de este frutal en el trópico seco (Ploetz, 2001). Los síntomas vegetativos en plantas adultas y juveniles incluyen pérdida de dominancia apical del tallo con proliferación y brotación excesiva de yemas apicales y subapicales, entrenudos cortos y reducción de la lámina foliar que originan masas compactas de tejido. Las inflorescencias presentan entrenudos cortos, tallos engrosados y proliferación de miles de flores estériles (Kumar *et al.*, 1993, Freeman *et al.*, 2014). En México, *Fusarium pseudocircinatum*, *F. subglutinans* y *F. mexicanum* son los agentes causales de esta enfermedad (Noriega *et al.*, 1999; Freeman *et al.*, 2014).

De acuerdo con Hammerschmidt (2006) y Lattanzio *et al.* (2006), algunos compuestos fenólicos desempeñan funciones importantes de defensa contra fitopatógenos al presentar actividad antimicrobiana (fitoalexinas y fitoanticipinas), conformar barreras estructurales (lignina) o participar como moduladores de patogenicidad (ácido cinámicos). Entre los compuestos fenólicos asociados a defensa de las plantas, se reportan los ácidos vanílico, cafeico y ferúlico en *Solanum lycopersicum* infectado por *F. oxysporum* (Panina *et al.*, 2007); así como los ácidos cafeico y clorogénico en *Prunus persica* atacado por *Monilinia fructicola* (Gradziel *et al.*, 1998). También, se ha observado que la mayor concentración de ácido clorogénico está relacionada con algunos cultivares resistentes de *Malus domestica* a *Venturia inaequalis* (Mikulic *et al.*, 2008).

En algunos cultivares de mango, los compuestos fenólicos y fitoalexinas pueden estar implicados en la resistencia a *Fusarium* spp. (Singh, 2006); la concentración (fenoles) es mayor en tejido vegetativo infectado (*F. moniliforme*, *F. oxysporum*) y puede variar con el cultivar y clima (Chakrabarti 2011; Kumar *et al.*, 2011). Es importante destacar que la mayoría de los trabajos

asociados con la susceptibilidad de cultivares de mango a *Fusarium* spp., consideran principalmente el contenido de fenoles totales relacionados con la tolerancia. La mangiferina (fitoalexina), metabolito natural de *Mangifera indica*, se encuentra principalmente en los tejidos meristemáticos e influye en la diferenciación de yemas; *in vitro* inhibe el crecimiento de *Fusarium*; además, en brotes malformados, la concentración se incrementa significativamente (319%) en comparación con los sanos (Chakrabarti y Ghosal, 1989; Chakrabarti *et al.*, 1990; Kumar y Chakrabarti, 1992).

La MVF presenta incidencia y severidad contrastante por la aptitud epidémica que el patógeno muestra en diferentes regiones agroecológicas (trópicos seco, húmedo y subhúmedo) del mundo (Ploetz, 2001; Dias *et al.*, 2003), incluyendo a México (Espinosa *et al.*, 2007); por lo que es relevante documentar la tolerancia de cultivares de mango a *Fusarium* spp. y que son promisorias para el mercado mexicano de exportación. Considerando que algunos compuestos antimicrobianos están involucrados en la defensa contra fitopatógenos, y que la concentración y actividad está relacionada con el genotipo del hospedante. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar cambios en la concentración de mangiferina y ácidos clorogénico, gálico, ferúlico, cafeico y p-hidroxibenzoico como respuesta a la infección de *F. subglutinans* y *F. mexicanum* en cinco cultivares de mango.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Área de estudio, material vegetal y tolerancia varietal**

El estudio se realizó en vivero ubicado en Huamuxtitlán, Guerrero, México (17.772 N, -98,556 O), protegido con malla sombra 50%. Se utilizaron plantas injertadas con los cvs. ‘Ataúlfo’, ‘Haden’, ‘Mallika’, ‘Nam Doc Mai’ y ‘Rosigold’ y los aislados monospóricos GUEPV-1 (*F.*

*subglutinans*, accesión KC894686) y MICHPV-4 (*F. mexicanum*, accesión KC894684) conservados en la colección de hongos del Laboratorio de Enfermedades de Frutales, Posgrado de Fitosanidad-Fitopatología del Colegio de Postgraduados (CP). Los aislados se incubaron en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) (BD Bioxon<sup>®</sup>) por 12 d a 28°C en condiciones de luz-oscuridad (12:12 h); posteriormente se preparó una suspensión conidial a  $2 \times 10^6$  conidios mL<sup>-1</sup>. La inoculación consistió en infiltrar 100 µL de la suspensión conidial con una jeringa hipodérmica estéril en la yema apical y primeras tres yemas axilares subapicales de cada planta. El experimento se estableció con diseño experimental en parcelas divididas, siendo la parcela principal los cultivares y las subparcelas los tratamientos de inoculación: GUEPV-1, MICHPV-4 y la combinación de ambos aislamientos; el testigo fue agua destilada estéril. Se utilizaron cinco repeticiones/ tratamiento con una planta como unidad experimental.

**Variables evaluadas:** El periodo de incubación (PI) y la incidencia (%) de plantas con síntomas de malformación se registraron cada 35 días después de la inoculación (ddi); la severidad se estimó en niveles de daño y se determinó el índice de severidad de la enfermedad (ISE) con la fórmula  $ISE = \frac{[(D1+D2)]}{[T1+T2]} \times 100$ , adaptada de Kumar y Beniwal (1992), donde D1 y D2 representaron el nivel promedio de severidad de la enfermedad por planta infectada/cultivar en la primera y segunda replica experimental, respectivamente; mientras que T1 y T2 consideraron el número total de plantas evaluadas por experimento. La escala de severidad propuesta es: nivel 0 (Inmune o resistente, ISE= 0%): presencia de dominancia apical y ausencia de brotación lateral; nivel 1 (Moderadamente resistente, ISE= 0.1-1.0%): presencia de dos tallos con dominancia apical; sin yemas axilares prominentes; nivel 3 (Tolerante, ISE= 1.1-10.0%): presencia de uno o dos tallos con yemas axilares prominentes (abultadas o globosas); nivel 5 (Susceptible, ISE= 10.1-20%): proliferación moderada de uno a dos tallos que emergen del mismo punto con entrenudos cortos y

engrosamiento de la base del tallo o ápice; nivel 7 (Altamente susceptible, ISE= >20%): pérdida de dominancia apical, entrenudos cortos, proliferación excesiva (conglomerado de tejido o arrosado) y hojas pequeñas.

### **Cuantificación de mangiferina y ácidos fenólicos**

De cada unidad experimental, se colectó una hoja individual madura, sana y sin daños mecánicos ubicados en el estrato superior; de la sección media de cada hoja se colectaron 12-15 cm<sup>2</sup> de tejido y se eliminó la nervadura central. Se formaron muestras compuesta por tratamiento/cultivar, se colocaron en sobres de papel aluminio con perforaciones de 2 mm<sup>2</sup> y se sumergieron en nitrógeno líquido. En laboratorio, las muestras se almacenaron a -20°C hasta el análisis en el Laboratorio de Fitoquímica del CP. Los muestreos se realizaron 2 h antes de la inoculación y a los 7, 35, 125 y 300 ddi.

La extracción de mangiferina (Mang) y los ácidos cafeico, clorogénico, ferúlico, gálico y p-hidroxibenzoico se realizó con el método propuesto por Salinas *et al.* (2014), modificada para este estudio. Las hojas se liofilizaron por cuatro días, posteriormente se trituraron en un mortero de porcelana y la muestra se almacenó a -20°C. De cada muestra molida se pesaron 500 mg, adicionaron 5 mL de agua grado HPLC y mezcló por un 1 min en un vortex mixer (CLP<sup>®</sup>) y por 30 min en un agitador vibratorio (Heidolph<sup>®</sup>), posteriormente la muestra se centrifugó a 5000 rpm/ 10 min y recolectó el sobrenadante. El extracto acuoso se filtró a través de acrodiscos de nylon (Titán<sup>®</sup>) con poros de 0.45 µm e inyectaron en cromatógrafo de líquidos de alta resolución (Heyulett Packard 1100<sup>®</sup>) equipado con inyector automático, detector de arreglo de diodos (Agylent Technologies 1200<sup>®</sup>) y columna Nucleosil Nautilus 100 Å (125 x 4.0 mm y 5 µm de diámetro de partícula). Para determinar los compuestos de la muestra se utilizó agua grado HPLC pH 2.5 ajustado con ácido trifluoroacético (canal A) y acetonitrilo (canal B) con el siguiente tiempo

0-10 min (A:85, B:15) y 10-23 min (A:65, B:35); la velocidad de flujo fue 1 mL/ min a 30 °C, se inyectaron 20 µL de extracto y la lectura fue a 280 nm. Se construyeron curvas de calibración usando 5, 10, 25, 50, 75 y 100 µg mL<sup>-1</sup> (R<sup>2</sup>= 99%) de los estándares (Sigma-Aldrich®) de mangiferina (06279) y los ácidos clorogénico (C3878), gálico (398225), ferúlico (46278), cafeico (C0625) y p-hidroxibenzoico (240141). La identificación de los compuestos se realizó por comparación de los tiempos de retención con los estándares y sus respectivos espectros en UV.

### **Actividad fungistática de la mangiferina**

Se evaluó la inhibición del crecimiento micelial de *F. mexicanum* y *F. subglutinans* en medio PDA adicionado con Mang. Se prepararon soluciones de mangiferina (Sigma-Aldrich®) a 5.1 y 102 µg/ mL<sup>-1</sup> y se adicionaron al medio PDA (tibio, previo a solidificación) para obtener las concentraciones 0, 1, 10, 100 y 1000 µg mL<sup>-1</sup>. Discos de PDA (5 mm Ø) obtenidos del borde de las colonias de 10 d se transfirieron al centro de cajas Petri con PDA adicionado con Mang, se incubaron a 28°C en oscuridad continua durante 10 d y se midió el crecimiento radial medio por colonia. El porcentaje de inhibición de crecimiento se determinó con la fórmula, PIC=crecimiento testigo – crecimiento radial por tratamiento / crecimiento testigo x100 (Rondón *et al.*, 2006). La prueba se evaluó con tres repeticiones por aislado y un testigo (cajas Petri con PDA, sin Mang). El experimento se replicó dos veces.

### **Análisis estadístico**

Con los valores promedios de incidencia, ISE, PI, efecto inhibitorio de mangiferina y la concentración de la Mang y ácidos fenólicos se realizaron análisis de varianza con el Modelo Lineal General (GLM). La medias de los tratamientos y cultivares se compararon con la prueba diferencia mínima significativa, usando el paquete estadístico SAS. La concentración efectiva 50% (EC<sub>50</sub>) se calculó con el procedimiento Probit en SAS (SAS, 2014).

## RESULTADOS

### Tolerancia varietal

La respuesta a *Fusarium subglutinans* (Fs) y *F. mexicanum* (Fm), estimada por los PI e ISE, contrastó entre los cultivares evaluados. ‘Ataúlfo’ fue tolerante, ‘Rosigold’ y ‘Nam Doc Mai’ susceptibles, mientras que ‘Mallika’ y ‘Haden’ altamente susceptibles. En el genotipo tolerante se observó el PI más prolongado (267 d), ISE bajo (3.67%) y los síntomas fueron principalmente yemas axilares hinchadas o globosas y algunas proliferaciones laterales de escaso desarrollo en los dos flujos de crecimiento posteriores al sitio inoculación; mientras que, en los susceptibles y altamente susceptibles mostraron pérdida de dominancia apical, entrenudos cortos, engrosados y proliferación excesiva de brotes con reducción de lámina foliar que formaron masas compactas de tejido vegetativo (Figura 1, Tabla 1).

**Tabla 1.** Periodos de incubación, índice de severidad e incidencia de malformación vegetativa en cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) inoculados con *Fusarium subglutinans* y *F. mexicanum* en Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

Cultivar	Índice de Severidad (%)	Incidencia (%)	Periodo de incubación (días)	Reacción
‘Ataúlfo’	3.67 c <sup>z</sup>	23.33 c	267 a	Tolerante
‘Rosigold’	12.0 b	40.0 bc	179 b	Susceptible
‘Nam Doc Mai’	13.0 b	43.33 b	195 b	Susceptible
‘Mallika’	39.33 a	93.33 a	172 b	Altamente susceptible
‘Haden’	41.33 a	80.0 a	168 b	Altamente susceptible

<sup>z</sup> = Medias con diferente letra son significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ).

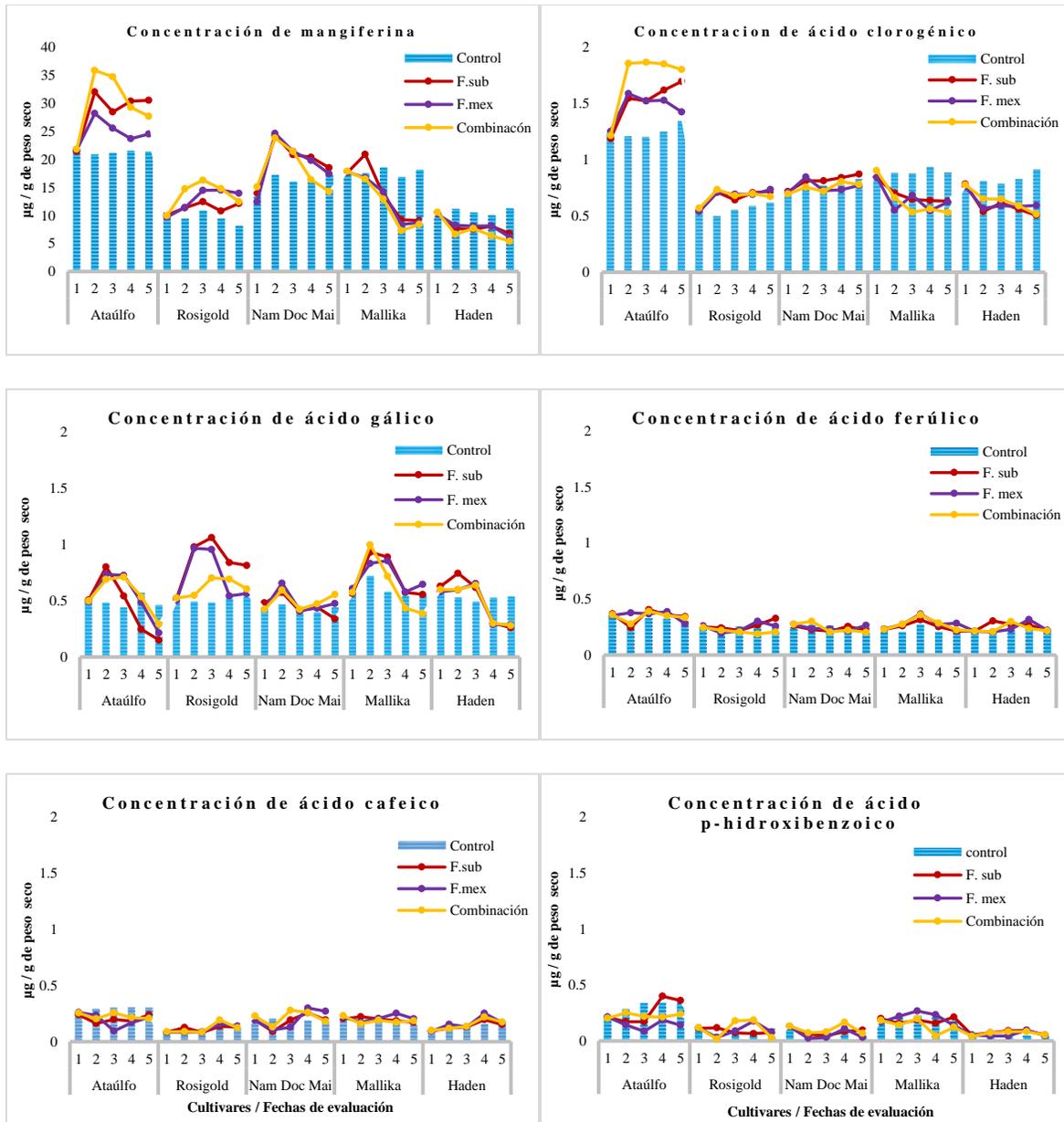


**Figura 1.** Síntomas de malformación vegetativa en cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.). En vista horizontal: ‘Ataúlfo’ (A-D) (tolerante); ‘Rosigold’ (E-H) y ‘Nam Doc Mai’ (I-L) (susceptibles); ‘Mallika’ (M-P) y ‘Haden’ (Q-T) (altamente susceptibles). En vista vertical: Inoculados con *Fusarium subglutinans* (B, F, J, N y R), *F. mexicanum* (C, G, K, O y S) y la combinación de aislados (D, H, L, P y T). Control agua destilada estéril (A, E, I, M y Q). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

## Ácidos fenólicos y mangiferina

Las concentraciones naturales de Mang y el ácido clorogénico, independientemente de la inoculación, mostraron mayor contraste en ‘Ataúlfo’, ‘Mallika’ y ‘Nam Doc Mai’ (Figura 2, Tabla 2). En plantas inoculadas, las concentraciones y fluctuación de los ácidos fenólicos (AF) fueron variables de acuerdo al cultivar. En los cultivares menos susceptibles (‘Ataúlfo’, ‘Nam Doc Mai’ y ‘Rosigold’) se observó incremento rápido de Mang y los ácidos clorogénico y gálico en los primeros siete ddi; posteriormente, las concentraciones fueron superiores a las cuantificadas en plantas sanas durante el periodo de estudio (300 d), excepto para el caso del ácido gálico que sólo fue superior en los primeros 35 ddi. En ‘Mallika’ y ‘Haden’, altamente susceptibles, los contenidos de Mang y ácido clorogénico fueron inferiores a las registradas en plantas testigo durante el estudio. En contraste, el ácido gálico se incrementó sustancialmente en los primeros siete ddi, alcanzando concentraciones superiores a los 35 ddi y después disminuyó hasta los 300 ddi (Figura 2).

El cv. ‘Ataúlfo’, que mostró mayor tolerancia a *Fusarium* spp., presentó mayor contenido de Mang y ácido clorogénico, ferúlico, p-hidroxibenzoico y cafeico (27.74, 1.564, 0.347, 0.214 y 0.209  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco). Los valores menores en estas variables se observaron en los cultivares susceptibles (‘Rosigold’ y ‘Nam Doc Mai’) y altamente susceptibles (‘Haden’ y ‘Mallika’) ( $P \leq 0.05$ ) (Tabla 2).



**Figura 2.** Concentración estacional media de mangiferina y cinco ácidos fenólicos en cultivares de mango inoculados con *Fusarium subglutinans*, *F. mexicanum* y la combinación. Fechas de evaluación: 1 (antes de la inoculación), 2 (7 días después de inoculación: ddi), 3 (35 ddi), 4 (125 ddi), 5 (300 ddi). Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

**Tabla 2.** Concentración de mangiferina y cinco ácidos fenólicos de hojas maduras de cinco cultivares de mango inoculados con *Fusarium* spp. Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2015.

Cultivar	Tratamiento	Mangiferina ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco)	Ácido ( $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco)				
			Clorogénico	Cafeico	Ferúlico	Gálico	P-hidroxibenzoico
‘Ataúlfo’	Inoculado	27.74±4.58a <sup>z</sup>	1.564±0.27a	0.209±0.02a	0.347±0.01a	0.508±0.07b	0.214±0.07a
	Testigo	21.31±0.25a	1.104±0.07a	0.198±0.06a	0.321±0.04a	0.48±0.01bc	0.30±0.01a
‘Nam Doc Mai’	Inoculado	18.99±3.92b	0.773±0.04b	0.200±0.02a	0.241±0.01b	0.473±0.04b	0.084±0.02b
	Testigo	16.08±1.39c	0.824±0.07c	0.188±0.04b	0.226±0.04b	0.427±0.01c	0.206±0.06c
‘Rosigold’	Inoculado	13.30±2.07c	0.671±0.01bc	0.112±0.01b	0.241±0.03b	0.721±0.14a	0.098±0.01b
	Testigo	9.62±0.99d	0.563±0.06e	0.11±0.03d	0.22±0.03bc	0.50±0.03abc	0.054±0.02c
‘Mallika’	Inoculado	12.61±4.47c	0.661±0.04c	0.198±0.02a	0.272±0.02b	0.675±0.06a	0.176±0.04a
	Testigo	17.76±0.61b	0.893±0.04b	0.141±0.03c	0.258±0.01c	0.592±0.02a	0.092±0.01b
‘Haden’	Inoculado	7.87±1.55d	0.627±0.02c	0.148±0.01b	0.241±0.01b	0.495±0.01b	0.065±0.01b
	Testigo	10.69±0.51d	0.763±0.07d	0.149±0.05c	0.27±0.02c	0.53±0.01ab	0.088±0.03c

<sup>z</sup>= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ( $P\leq 0.05$ ).

### Mangiferina y crecimiento de *Fusarium* spp., *in vitro*

La mangiferina limitó el crecimiento de las dos colonias fungosas. El mayor efecto inhibitorio se observó a  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  (*F. subglutinans* 66.06%; *F. mexicanum* 61.91%) ( $P\leq 0.05$ ), con una concentración efectiva ( $CE_{50}$ ) media de  $747.54 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Tabla 3).

**Tabla 3.** Efecto inhibitorio de la mangiferina en el crecimiento micelial de *Fusarium subglutinans* y *F. mexicanum in vitro*.

Especie	Concentración ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Inhibición de crecimiento (%)	$CE_{50}$ ( $\mu\text{g i.a. mL}^{-1}$ )
<i>Fusarium subglutinans</i>	1	6.5 c <sup>z</sup>	710.11
	10	9.99 b	
	100	10.73 b	
	1000	66.07 a	
<i>F. mexicanum</i>	1	17.66 b	784.98
	10	18.10 b	
	100	22.62 b	
	1000	61.91 a	

<sup>z</sup>= Medias con diferente letra son significativamente diferentes ( $P\leq 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

En los cvs. ‘Ataúlfo’, ‘Rosigold’ y ‘Nam Doc Mai’ se observó que los PI fueron más prolongados y la incidencia e ISE bajos; además la escala de severidad propuesta permitió estimar que ‘Ataúlfo’ fue tolerante; mientras que, ‘Haden’ y ‘Mallika’ altamente susceptibles (Tabla 1, Figura 1). Los PI pueden variar según la especie inoculada de *Fusarium*, por ejemplo se han observado periodos de 90-210, 90-120 y 330 ddi en plantas infiltradas con *F. mangiferae*, *F. proliferatum* y *F. pseudocircinatum*, respectivamente (Iqbal *et al.*, 2006; Zhan *et al.*, 2010; García *et al.*, 2016). En estudios previos se confirmó la tolerancia de ‘Ataúlfo’ (PI= 164-231 d) y alta susceptibilidad de ‘Haden’ y ‘Cotaxtla’ (PI= 90-176 ddi) cuando se inocularon con la combinación de *Fusarium* spp. (García, 2012); asimismo, la susceptibilidad alta de ‘Haden’ se ha reportado en Brasil y ‘Mallika’ en la India (Dias *et al.*, 2003; Chakraborti y Kumar, 2014). Aun cuando ‘Nam Doc Mai’ fue susceptible (ISE= 13%) en este estudio, Augustyn *et al.* (2014), lo clasificaron como resistente al complejo *F. subglutinans*, *F. proliferatum* y *F. fujikuroi*, evidenciando el comportamiento diferencial que puede tener el cultivar dependiendo de las especies involucradas en la infección.

Las concentraciones y fluctuación de los AF en plantas infectadas por *Fusarium* spp., fueron variables según el cultivar. Los compuestos fenólicos pueden encontrarse en mayor proporción en órganos vegetativos malformados que en el tejido asintomático de las plantas enfermas, sus niveles dependerán de la estacionalidad, el genotipo, condiciones ambientales (Kumar *et al.*, 2011; Singh, 2006; Sharma *et al.*, 2001), madurez fisiológica y posición de las hojas en el flujo de crecimiento y factores que causan estrés como heridas, entre otros (Andreotti *et al.*, 2006). La oxidación conduce a la formación de quinonas y radicales libres que pueden provocar toxicidad en el patógeno o inactivar sus enzimas o activar genes de defensa en las plantas (Hammerschmidt, 2006; Lattanzio *et al.*, 2006).

El cv. ‘Ataúlfo’ mostró la mayor tolerancia a *Fusarium* spp., y los contenidos de ácidos clorogénico, cafeico, ferúlico y p-hidroxibenzoico fueron superiores respecto al resto de los cultivares (Cuadro 2). La tolerancia significativa de ‘Ataúlfo’ a las dos especies de *Fusarium* que se evaluaron ha sido consistente en estudios previos (García, 2012). Los ácidos cafeico, ferúlico y clorogénico pueden jugar un rol importante en la resistencia a patógenos. Se han encontrado concentraciones altas de ácido clorogénico en genotipos tolerantes de *Helianthus annuus* y *Pyrus communis* a *Slcerotinia sclerotiorum* y *Erwinia amylovora*, respectivamente (Mondolot y Andrey, 1994; Farkas *et al.*, 2004). Asimismo, el ácido ferúlico puede inhibir el crecimiento de *F. graminearum* en genotipos de maíz y la resistencia o susceptibilidad puede ser influenciada por la heredabilidad del compuesto (Assabgui *et al.* 1993). Mikulick *et al.* (2008), sugieren que la mayor resistencia de *Malus domestica* a *Venturia inaequalis* depende del incremento significativo de los ácidos clorogénico (2 a 6 veces), cafeico y ferúlico (1.5 a 2.8 veces) en tejido infectado, respecto al tejido asintomático de plantas enfermas, además es una consecuencia de reacción de defensa en el proceso de patogénesis.

Las plantas enfermas de los cvs. ‘Mallika’ y ‘Haden’, altamente susceptibles, mostraron los contenidos bajos de mangiferina y ácido clorogénico, siendo inferiores a los observados en plantas sanas. En contraste, el ácido gálico fue superior a las plantas testigo sólo por 35 ddi, decreciendo posteriormente en forma constante (Figura 2). Estos resultados contrastan con Chakrabarti y Ghosal (1989), quienes sugirieron que en altas concentraciones de ácido gálico puede retardar el crecimiento *in vitro* de *F. moniliforme*. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que el incremento del ácido gálico no fue suficiente para limitar la severidad ( $0.465 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco).

En plantas de ‘Ataúlfo’ inoculadas se encontraron niveles altos de mangiferina ( $27.74 \mu\text{g g}^{-1}$  peso seco), respecto a los cultivares susceptibles y altamente susceptibles ( $7.87\text{--}18.99 \mu\text{g g}^{-1}$  peso

seco) (Tabla 2). Resultados similares se observaron en ‘Elaichi’ (tolerante) que presentó mayor contenido de mangiferina (108 mg g<sup>-1</sup> peso fresco) en comparación con ‘Beauty Mc-In’ (susceptible) (74 mg g<sup>-1</sup> peso fresco) (Singh, 2006). La mangiferina es un metabolito natural no tóxico que se encuentra en hojas y corteza de mango (Rymbai y Rajesh, 2011). En relación con *Fusarium* spp., actúa como una fitoalexina contribuyendo a impedir o limitar la infección, desarrollo y colonización normal del patógeno (Singh, 2006; Ansari *et al.*, 2005), por degradación de metabolitos tóxicos como ácido fusárico y otras enzimas (poligalacturonasa y pectina metil esterasa), que actúan como factores de patogenicidad (Chakrabarti, 2011; Chakrabarti y Ghosal, 1989).

De acuerdo con Chakrabarti (2011) y Rymbai y Rajesh (2011) los cultivares de mango con altas concentraciones de mangiferina son tolerantes a *Fusarium* spp., como se presentó en ‘Ataúlfo’; sin embargo, en ‘Mallika’ y ‘Nam Doc Mai’ se esperaba mayor tolerancia, pero se mostró una disminución de este compuesto a partir de los siete ddi. No obstante, Rymbai y Rajesh (2011) mencionan que la concentración alta de este compuesto en la planta no necesariamente asegura la traslocación a los sitios de infección por *Fusarium* spp. Este aspecto refleja la complejidad de la interacción fisiológica del patógeno con cultivares específicos.

En esta evaluación se exploraron los rangos generales en los cuales la mangiferina muestra efecto inhibitorio a *Fusarium* spp., y se observó que este ocurre a concentraciones de 100-1000 µg mL<sup>-1</sup>, por lo que se confirma la actividad fungistática *in vitro* (Tabla 3), siendo *F. mexicanum* (CE<sub>50</sub>=784.98 µg mL<sup>-1</sup>) menos sensible que *F. subglutinans* (CE<sub>50</sub>=710.11 µg mL<sup>-1</sup>). La inhibición de la germinación de conidios y crecimiento micelial de *Fusarium* spp., ocurre en forma directa con la concentración de este metabolito *in vitro* y en altas concentraciones reduce los niveles de infección en tejidos enfermos (Ansari *et al.*, 2005). También tiene actividad inhibitoria contra

diversos patógenos como *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Bacillus pumilus*, entre otros, a una  $CE_{50}$  de  $7.5 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Stoilova *et al.*, 2005). A diferencia de los compuestos fenólicos evaluados en este estudio, la mangiferina mostró la mayor relación con el ISE ( $R^2= 0.67$ ), lo cual sugiere que la tolerancia es un resultado complejo de la interacción fisiológica y bioquímica mango-*Fusarium* y la intensidad de respuesta depende de diferentes factores como la composición y sensibilidad de especies patógenas en campo, así como el comportamiento de compuestos antimicrobianos en la planta.

Los resultados obtenidos contribuyen al conocimiento de algunos compuestos fenólicos, sin embargo es importante considerar que en el proceso de patogénesis, se forman una gama amplia de otros compuestos como maclurina y maclurin O-galoil-glucósido (Augustyn *et al.* 2014), que también podrían considerarse en futuros estudios para explicar la tolerancia a *Fusarium* spp., en los cultivares de mango.

## REFERENCIAS

- Andreotti, C., Costa, G., and Treutter, D. 2006. Composition of phenolic compounds in pear leaves as affected by genetics, ontogenesis and the environment. *Scientia Horticulturae*, 109: 130–137.
- Ansari, M.W., Nailwal, T.K., Gomathi, A., Singh, A.K., Bains, G., Shukla, A., Chaube, H.S., Singh, U.S., and Pant R.C. 2005. Mangiferin (1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone-C2- $\beta$ -D-glucoside), a phenolic metabolite of mango (*Mangifera indica* L.), affects germination of spore of *Fusarium* sp. *Journal of Plant Biology*, 32(3): 155-159.
- Assabgui, R.A., Reid, L.M., Hamilton, R.I., and Arnason, T. 1993. Correlation of kernel (E)-Ferulic acid content of maize with resistance to *Fusarium graminearum*. *Phytopathology*, 83: 949-953.

- Augustyn, W.A., Regnier, T., Combrinck, S., and Botha, B.M. 2014. Metabolic profiling of mango cultivars to identify biomarkers for resistance against *Fusarium* infection. *Phytochemistry Letters*, 10: civ–cx.
- Chakrabarti, D.K. 2011. *Mango Malformation*. Springer, New York, USA. 148 p.
- Chakrabarti, D.K., and Ghosal, S. 1989. Disease cycle of mango malformation induced by *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* and the curative effects of mangiferin-metal chelates. *Journal Phytopathology*, 125: 238–246.
- Chakrabarti, D.K., Singh, A., and Singh, K. 1990. Physiological and biochemical changes induced by accumulated mangiferin in *Mangifera indica*. *Journal Horticulturae Science*, 65: 731–737.
- Chakraborti, K., and Kumar, M.D. 2014. Evaluation of taxa for tolerance against floral malformation in Gangetic West Bengal. *Universal Journal of Plant Science*, 2(2): 27-30.
- Dias, N.O., Rodrigues, M.T.V., Eloy, A.V., Hojo, T.N.R., Rebouças, J.A.S., Castellani, M.A.B., Pereira M.B., e Lopes, A.E.R. 2003. Incidência e severidade da malformação floral em seis cultivares de mangueira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(1): 179-180.
- Espinosa, A.J., Miranda, M., Arias, J.F., Rico, H.R., y Javier, J. 2007. La Escoba de Bruja o Malformación Floral del Mango en Michoacán. Folleto Técnico Núm. 1. Campo experimental Valle de Apatzingán, CIRPAC-INIFAP. México. 38 p.
- Farkas, A., Orosz, K.Z., and Buban, T. 2004. Floral biological studies on pear cultivars in relation to fire blight susceptibility. *International Journal of Horticultural Science*, 10(2): 25-30.
- Freeman, S., Shtienberg, D., Maymon, M., Levin, A.G., and Ploetz, R.C. 2014. New insights into mango malformation disease epidemiology lead to a new integrated management strategy for subtropical environments. *Plant Disease*, 98: 1456-1466.

- García, L.E. 2012. Tolerancia de cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) a la proliferación vegetativa y floral (*Fusarium* spp.) en México. Tesis Maestría. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México, México.
- García, L.E., Mora, J.A., Nava, C., Villegas, A., Tovar, J.M., Serra, C., and Batista, C.M. 2016. First report of *Fusarium pseudocircinatum* causing mango malformation disease in Dominican Republic. *Plant Disease*, 100(7): 1501.
- Gradziel, T.M., Thorpe, M.A., Bostock, R.M., and Wilcox, S. 1998. Breeding for brow rot (*Monilinia fructicola*) resistance in clingston peach with emphasis on the role of fruit phenolics. *Acta Horticulturae*, 465: 161-169.
- Hammerschmidt, R. 2006. Phenols and plant–pathogen interactions: The saga continues. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 66: 77–78.
- Iqbal, Z., Rehman, M., Dasti, A.A., Saleem, A., and Zafar, Y. 2006. RAPD analysis of *Fusarium* isolates causing mango malformation disease in Pakistan. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22: 1161-1167.
- Kumar, J., and Beniwal, S.P.S. 1992. Mango malformation. *In: Plant Disease of International Importance: Disease of Fruit Crops (Vol. III)*. J. Kumar, H. S. Chaube, U. S. Singh and N. A. Mukhopandhyay (eds.). Prentice-Hall. New Jersey, USA. pp: 357-393.
- Kumar, R., and Chakrabarti, K.D. 1992. Biochemical evidence of physiological specialization of *Fusarium moniliforme* Sheld, the incitant of malformation disease of *Mangifera indica* L. *Indian Journal of Experimental Biology*, 30(5): 448-450.
- Kumar, J., Singh, U.S., and Beniwal, S.P.S. 1993. Mango malformation: One hundred years of research. *Annual Review of Phytopathology*, 31: 217-232.

- Kumar, P., Misra, A.K., and Modi, D.R. 2011. Current status of mango malformation in India. *Asian Journal of Plant Sciences*, 10: 1-23.
- Lattanzio, V., Lattanzio, V.M.T., and Cardinali, A. 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in Research*, 23-67.
- Mikulic, P.M., Stampar, F., and Veberic, R. 2008. Increased phenolic content in apple leaves infected with the apple scab pathogen. *Journal of Plant Pathology*, 90(1): 49-55.
- Mondolot, C.L., and Andrey, C. 1994. Resistance factors of a wild species of sunflower, *Helianthus resinosus* to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Acta Horticulturae*, 381: 642-645.
- Noriega, C.D.H., Téliz, D., Mora, G., Rodríguez, J., Zavaleta, E., Otero, G., and Lee, C. 1999. Epidemiology of mango malformation in Guerrero, Mexico with traditional and integrated management. *Plant Disease*, 83: 223-228.
- Panina, Y., Fravel, D.R., Baker, C.J., and Shcherbakova, L.A. 2007. Biocontrol and plant pathogenic *Fusarium oxysporum*-induced changes in phenolic compounds in tomato leaves and roots. *Journal Phytopathology*, 155: 475–481.
- Ploetz, R.C. 2001. Malformation: A unique and important disease of mango, *Mangifera indica* L. *In: Fusarium: Memorial Symposium*. B. A. Summerell, J. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden and L. W. Burgess (eds.). APS Press, Minnesota, USA. pp: 233-247.
- Rondón, O., Sanabrá, A.N., y Rondón, A. 2006. Respuesta *in vitro* a la acción de fungicidas para el control de antracnosis, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, en frutos de mango. *Agronomía Tropical*, 56(2): 219-235.
- Rymbai, H., and Rajesh, A.M. 2011. Mango malformation: A review. *Life Sciences Leaflets*, 22: 1079–1095.

- Salinas, R.T., Sánchez, T.T., Ortega, C.M.E., Soto, H.S., Díaz, C.A., Hernández, J.B., Nava, C.C. and Vaquera, H.H. 2014. Changes in composition, antioxidant content, and antioxidant capacity of coffee pulp during the ensiling process. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(9): 242-248.
- Sharma, R.R., Goswami, M.A., Singh, N.C., Chonkar, P.O., and Singh, G. 2001. Catecholase and cresolase activities and phenolic content in mango (*Mangifera indica* L.) at panicle initiation. *Scientia Horticulturae*, 87: 147-151.
- SAS Institute Inc. 2014. The PROBIT procedure. In: SAS/STAT® 13.2 User's Guide. SAS Institute Inc (ed.). North Carolina, USA. pp: 6685-6793.
- Singh, K.V. 2006. Physiological and biochemical changes with special reference to mangiferin and oxidative enzymes level in malformation resistant and susceptible cultivars of mango (*Mangifera indica* L.). *Scientia Horticulturae*, 108: 43–48.
- Stoilova, I., Gargova, S., Stoyanova, A., and Ho, L. 2005. Antimicrobial and antioxidant activity of the polyphenol mangiferin. *Kerla Polonica*, 51(1/2): 37-44.
- Zhan, L., Yang, J., Ho, H., Liu, F., Zhao, L., Chang, M., and He, B. 2010. Mango malformation disease in South China caused by *Fusarium proliferatum*. *Journal Phytopathology*, 158: 721-725.

## DISCUSIÓN GENERAL

En esta investigación, *F. subglutinans* (Fs) y *F. mexicanum* (Fm) indujeron síntomas en órganos vegetativos y severidad contrastantes en los cultivares evaluados, aspecto que evidencia la variabilidad en tolerancia del hospedante. Consistentemente, ‘Ataúlfo’ fue tolerante, por lo que se sugiere usar como fuente de resistencia y junto con ‘Nam Doc Mai’ y ‘Rosigold’ (susceptibles con severidad intermedia) considerarse en un programa de manejo integrado del cultivo. ‘Haden’ y ‘Mallika’ se han comportado como altamente susceptibles (García, 2012; Chakraborti y Kumar, 2014) por lo que pueden constituirse como excelentes testigos positivos (control experimental) en futuras investigaciones de tolerancia varietal a *Fusarium* spp. Aun cuando ‘Mallika’, ‘Nam Doc Mai’ y ‘Rosigold’ mostraron significativa susceptibilidad, éstos cultivares también pueden tener excelente comportamiento productivo en regiones del trópico seco mediante cultivo con tecnologías optimizadas de manejo agronómico intensivo y sanitario, o establecerse en regiones húmedas y subhúmedas donde *Fusarium* spp., presenta aptitud epidémica limitada.

En México, los principales problemas tecnológicos que tiene el cultivo de mango, en general, son árboles de porte alto, baja densidad de plantación, estacionalidad marcada de la producción en el periodo de mayo a julio, falta de viveros certificados que garanticen el origen genético y calidad sanitaria del material vegetativo (Villegas y Mora, 2011) y manejo deficiente de plagas y enfermedades.

Las concentraciones de mangiferina y ácidos fenólicos en las plantas infectadas por Fs y Fm variaron según el cultivar. ‘Ataúlfo’ mostró la mayor tolerancia a las dos especies de *Fusarium*, y los contenidos de mangiferina y ácidos clorogénico, cafeico, ferúlico y p-hidroxibenzoico fueron superiores al resto de los cultivares. Lo anterior muestra que los compuestos hidroxicinámicos (ácidos cafeico, ferúlico, clorogénico) pueden jugar un rol importante en la tolerancia a patógenos

como se ha observado en otras interacciones (Panina *et al.*, 2007; Mikulic *et al.*, 2008). La relación de la mangiferina con el índice de severidad ( $R^2= 0.67$ ) sugiere que la MVF es un resultado complejo de la interacción mango-*Fusarium* y la intensidad de respuesta dependerá de factores como la composición y sensibilidad de especies patógenas en campo, así como del comportamiento de compuestos antimicrobianos en la planta, entre otros. *In vitro*, la mangiferina limitó el crecimiento de Fs y Fm, a concentraciones de 100-1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . La inhibición de la germinación de conidios y crecimiento micelial de *Fusarium* spp., ocurre en relación directa con la concentración de este metabolito y en altas cantidades puede reducir los niveles de infección en los tejidos enfermos (Ansari *et al.*, 2005).

Los programas actuales de mejoramiento del mango en el ámbito internacional han focalizado la generación de cultivares con la productividad y calidad que demandan los mercados (Campbell y Zill, 2009). En México, ‘Ataúlfo’ es el único cultivar amarillo con calidad de exportación, principalmente por tener consistencia firme, nivel bajo en acidez, así como intenso aroma y color amarillo de la pulpa intensos (Infante *et al.*, 2011). Sin embargo, enfrenta severos problemas por mezcla genética, frutos partenocárpicos, alternancia y estacionalidad de la producción (Noriega *et al.*, 2012). Con base en lo anterior, impulsar nuevos cultivares de tipo amarillo y de maduración temprana y tardía de acuerdo al comportamiento agronómico y tolerancia a patógenos relevantes contribuirá a diversificar la oferta de mango en México. En 2011 y 2012, investigadores del Colegio de Postgraduados introdujeron a México los cvs. ‘Mallika’, ‘Ivory’, ‘Rosigold’, ‘Nam Doc Mai’, ‘Fairchild’, ‘Neelum’, ‘Alphonse’ y ‘Kesar’, procedentes del Fairchild Tropical Botanic Garden, Florida, EE.UU., seleccionados por productividad y calidad de fruta, además de tener porte enano y semi-enano (en función de poda) que permitirán el manejo en esquemas de producción intensiva. Este estudio aporta conocimiento relativo al comportamiento sanitario de

nuevos cultivares tipo amarillos con potencial de exportación a *Fusarium* spp. Actualmente se evalúa la adaptación agronómica en algunas entidades de México, así como el comportamiento fitosanitario a otros patógenos fungosos (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Oidium mangiferae*) de importancia económica.

México tiene potencial amplio para explotar mango tipo amarillo, aun cuando es líder en exportación del mango ‘Ataúlfo’ (Galán, 2015); sin embargo, este cultivar paulatinamente pierde competitividad por la aparición de otros cultivares amarillos procedentes de Asia, en el mercado de EE.UU., por lo que es urgente revertir esta tendencia con cultivares competitivos en productividad, calidad y sanidad, ya que este cultivo tiene alta importancia social y representa una economía altamente lucrativa estimada en \$300 mdd en 2013 para los productores de México (FreshPlaza, 2014).

Los resultados obtenidos contribuyen al conocimiento de algunos compuestos fenólicos; sin embargo, es importante considerar que en el proceso de patogénesis, se forman una gama amplia de otros compuestos que también podrían considerarse en futuros estudios para explicar la tolerancia a la malformación vegetativa en los cultivares de mango.

## CONCLUSIONES FINALES

- ✓ El cv. 'Ataúlfo' fue tolerante, 'Rosigold' y 'Nam Doc Mai' susceptibles y 'Mallika' y 'Haden' altamente susceptibles.
- ✓ El cv. 'Ataúlfo' presentó menor índice de severidad (ISE= 3.6%), severidad final ( $y_f= 0.6$ ), tasa de infección ( $b^{-1}= 0.039$ ) e intensidad de la enfermedad (ABCPE= 0.53) respecto al resto de los cultivares que se evaluaron.
- ✓ En todos los cultivares, la infiltración de *Fusarium subglutinans* y *F. mexicanum* indujo mayor incidencia y severidad (Inc= 72%, ISE= 30.8%), que inoculados individualmente: Fs (Inc= 52%, ISE= 19.2%) y Fm (Inc= 44%, ISE= 15.6%).
- ✓ La concentración y fluctuación de mangiferina y ácidos clorogénico, gálico, ferúlico, cafeico y p-hidroxibenzoico en plantas enfermas fueron variables según el cultivar. En 'Ataúlfo', 'Nam Doc Mai' y 'Rosigold' se observó incremento rápido de la mangiferina y ácidos clorogénico y gálico en los primeros siete ddi.
- ✓ El cv. 'Ataúlfo' presentó el mayor contenido de ácido clorogénico, cafeico, ferúlico y p-hidroxibenzoico (1.564, 0.209, 0.347 y 0.214  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco).
- ✓ La mangiferina inhibió el crecimiento *in vitro* de colonias de *F. subglutinans* y *F. mexicanum* a concentración de 100-1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , con una concentración efectiva media de 747.54  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Además mostró mayor relación con el ISE ( $R^2= 0.67$ ).