

# Identificación del agente causal de la pudrición parda en frutos de duraznero (*Prunus pérsica*, L. Batsch) en Boyacá \*

**Yenny Consuelo Guarín Torres**

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC) Tunja – Colombia  
yenny.guarin@uptc.edu.co  <https://orcid.org/0000-0003-3087-8204>

**Mónica Jovanna Patiño Pacheco**

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC) Tunja – Colombia  
monicajovanna.patiño@uptc.edu.co  <https://orcid.org/0000-0001-9645-1145>

**John Wilson Martínez**

Docente Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC) Tunja – Colombia  
john.martinez@uptc.edu.co  <https://orcid.org/0000-0002-5742-8062>

## RESUMEN

La enfermedad fungosa más limitante del duraznero (*Prunus pérsica*, L. Batsch) en Colombia es la pudrición parda, *Monilia spp.*, que afecta flores, brotes y frutos, causando pérdidas hasta del 80%. El objetivo de la investigación fue identificar el patógeno asociado a pudrición parda en cuatro variedades: Dorado, Rubidoux, Diamante y Rey negro en el departamento de Boyacá. El estudio inicio con la colecta de frutos enfermos en Jenesano, Paipa, Tuta, Sotaquirá y Nuevo Colón. En laboratorio se realizó la obtención, aislamiento y purificación de los hongos presentes. Se realizó también caracterización morfológica de las colonias y conidias sobre cultivos monospóricos y caracterización molecular mediante amplificación por PCR del ADN ribosomal empleando iniciadores ITS4 e ITS5. Se obtuvieron 32 aislamientos del género *Monilia* y se identificaron tres especies presentes en la zona muestreada: *Monilia fructicola*, *Monilia fructigena* y *Monilia laxa*, en 62,5%, 25% y 12,5%, respectivamente. En la amplificación de la región ribosomal se observaron diferencias entre las dos primeras especies, en el tamaño de las bases amplificadas, siendo *M. fructicola* de 550 pb y *M. fructigena* de 545pb. Este trabajo contribuye a la caracterización de las especies de *Monilia* que afectan al duraznero en varias regiones del departamento de Boyacá.

## PALABRAS CLAVE

Caducifolios, *Monilia*, morfotipos, momificación, podredumbre

# Identification of the causal agent of brown rot in fruits of peach trees (*Prunus pérsica*, L. Batsch) in Boyacá

## ABSTRACT

The most limiting fungal disease in peach crop (*Prunus pérsica*, L. Batsch) in Colombia is brown rot, *Monilia spp.*, that affects flowers, buds and fruits, with economic losses of up to 80%. The objective of this work was to identify the pathogen associated with the brown rot in four varieties: Dorado, Rubidoux, Diamante and Rey Negro in Boyacá department. The study started collecting symptomatic fruits in Jenesano, Paipa, Tuta, Sotaquirá and Nuevo Colón. In laboratory were obtained, isolated and purified the fungi present. Also morphological characterization

Recibido: 15/10/2018 Aceptado: 30/11/2018

\* <http://dx.doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.1.5418> Este es un artículo Open Access bajo la licencia BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)

Cómo citar este artículo: TORRES GUARÍN, Yenny Consuelo, PATIÑO PACHECO, Mónica Jovanna, MARTÍNEZ, John Wilson. Identificación del agente causal de la pudrición parda en frutos de duraznero (*Prunus pérsica*, L. Batsch) en Boyacá. En: Entramado. Enero - Junio, 2019. vol. 15, no. 1, p. 298-309 <http://dx.doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.1.5418>



of colonies and conidia were done on monosporic cultures and molecular characterization through PCR amplification of the ribosomal DNA using ITS4 and ITS5 primers. It were obtained 32 isolates of *Monilia* and three species were identified in the sampled area: *Monilia fructicola*, *Monilia fructigena* and *Monilia laxa*, in a 62.5%, 25% and 12.5%, respectively. In the amplification of the ribosomal region, differences could be observed between the first two species, in the size of the amplified bases, being *M. fructicola* of 550 bp and *M. fructigena* of 545 bp. This work contributes to the characterization of the *Monilia* species that affect the peach tree in several regions of Boyaca's department.

## KEYWORDS

Deciduous, *Monilia*, morphotypes, mummification, rot

## Identificação do agente causal da podridão parda em frutos de pessegueiro (*Prunus pérsica*, L. Batsch) em Boyacá

## RESUMO

O mais limitante pêssego doença fúngica (*Prunus persica* L. Batsch) na Colômbia é o da podridão castanha, *Monilia* spp., afetando flores, botões e frutos, causando uma perda de até 80%. O objetivo da pesquisa foi identificar o patógeno associado à podridão parda em quatro variedades: Dorado, Rubidoux, Diamante e Rey negro no departamento de Boyacá. O estudo começou com a coleta de frutas doentes em Jenesano, Paipa, Tuta, Sotaquirá e Nuevo Colón. No laboratório foi realizada a obtenção, isolamento e purificação dos fungos presentes. Caracterização morfológica das colônias e conídios em culturas de esporos e caracterização molecular também foi realizado por amplificação por PCR utilizando iniciadores de ADN ribossomal e ITS4 ITS5. 32 isolados foram obtidos gênero *Monilia* e três espécies presentes na área amostrada identificado: *Monilia fructicola*, *Monilia laxa*, *Monilia fructigena* e em 62,5%, 25% e 12,5%, respectivamente. Na amplificação da região ribossomais diferenças entre as duas primeiras espécies que foram observados no tamanho das bases amplificadas, sendo 550bp *M. fructicola* e *M. fructigena* de 545pb. Este trabalho contribui para a caracterização das espécies de *Monilia* que afetam o pessegueiro em diversas regiões do departamento de Boyacá

## PALAVRAS-CHAVE

Decíduo, *Monilia*, morfotipos, mumificação, podridão.

### Introducción

El cultivo de duraznero (*Prunus persica* L. Batsch) es muy representativo del trópico alto en Colombia (Castro y Puentes, 2012). Las áreas destinadas para la producción de duraznero se concentran principalmente en el departamento de Boyacá, con una participación del 60,5% de las zonas productoras del país. De acuerdo con la Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas (SCCH) en Colombia, el durazno es la especie de frutal de zona templada más sobresaliente, en virtud que pueden programarse sus cosechas a lo largo del año, siendo uno de los cultivos más productivos y competitivos de la región (SCCH, 2012 citado por Ávila, 2013). Actualmente existen 833 hectáreas sembradas con un rendimiento cercano a las 12 ton.ha<sup>-1</sup>, distribuidas en los municipios de Sotaquirá, Paipa, Tinjacá, Nuevo Colón y Tuta (MADR, 2015).

En Boyacá los cultivos de caducifolios se encuentran ubicados en altitudes de 2.108 y 2.891 m, con una temperatura que oscila entre 6 y 20°C, humedad relativa del 68%, preci-

pitaciones anuales entre los 960 y 1.100 mm y brillo solar anual de 1.700 y 1.774 h.lux<sup>-1</sup> (Miranda y Carranza, 2013a). El departamento tiene ventajas comerciales y productivas en el duraznero y ciruelo (Puentes y otros, 2008).

De acuerdo con su volumen y generación de ingresos, este cultivo es significativo en su participación en el mercado nacional e internacional. En el departamento de Boyacá, las variedades de duraznero más cultivadas son: Dorado, Diamante, Rubidoux y Rey negro (Miranda y Carranza, 2013b).

No obstante, los frutos de durazno presentan susceptibilidad a distintos patógenos principalmente hongos que ocasionan grandes pérdidas (Agris, 2005; Hernández, 2009). La podredumbre parda o momificación de los frutos es una enfermedad producida por hongos del género *Monilia*. Este patógeno reduce la calidad y rendimiento en los frutales afectados (*Prunus* spp.), y en especies de rosáceas (Ogawa, 1995) afecta los cultivos en etapas de floración, fructificación y hasta pos-cosecha (Mendoza, 2010).

La podredumbre parda se atribuye a diferentes especies de *Monilia*. A nivel mundial se han identificado tres especies que producen la enfermedad: *M. laxa*, *M. fructigena* y *M. fructicola* (Scatoni, 2010). Esta enfermedad sobresale en el cultivo de caducifolios porque produce tizón de flores, muerte de ramas y pudrición en los frutales, hasta su momificación y destrucción (Mondino, 2014). Hay registros donde se menciona que sin un adecuado manejo y condiciones climáticas favorables al patógeno causa pérdidas que superan el 80% por daños en rendimiento y calidad de las cosechas (Mondino, 2002; Coca, 2011). Los ambientes que favorecen su desarrollo son temperaturas entre los 12 a 25°C y humedad relativas entre el 70 y 85%, presentándose un estado de latencia sobre frutos momificados, siendo estos fuente de inóculo en cada ciclo productivo (Agrios, 2004).

En EE.UU. y toda América del Sur *M. fructicola* causa la pudrición parda del fruto del duraznero, reduce la productividad y su rentabilidad, (Agrios, 2004; Giayetto y otros, 2007). En Japón, *M. fructigena*, afecta durazno y membrillo (Agrios, 2005). Se han reportado en zonas tropicales y subtropicales *M. laxa* y *M. polystroma* que ocasionan la pudrición de frutos de duraznero (Mendoza, 2010), *M. laxa* que afecta principalmente flores, mientras que *M. fructicola* tiene mayor severidad en los frutos de duraznero (Mitidieri y otros, 2005; Côté, 2004).

En Colombia, la podredumbre parda ocasiona grandes pérdidas en etapas de pre-cosecha y pos-cosecha afectando el rendimiento y calidad de los frutos, por ello se estableció como objetivo de este trabajo identificar mediante caracteres morfológicos y moleculares, las especies de *Monilia spp.*, que causan la pudrición en frutales de duraznero en cuatro variedades sembradas en el departamento de Boyacá.

## I. Materiales y métodos

### I.1. Muestreo y recolección de muestras

El trabajo inició con una colecta en huertos comerciales de duraznero ubicados en los municipios de: Paipa, Sotaquirá, Tuta, Jenesano y Nuevo Colón, en el departamento de Boyacá (Colombia) (Tabla 1). Las colectas se realizaron en los meses de noviembre a enero de 2016. El muestreo fue aleatorio, en forma de zigzag cada 5 metros de distancia, identificando los focos de infección en donde se colectó frutos, flores y ramas afectadas por pudrición, en las cuatro variedades: Dorado, Diamante, Rubidoux y Rey negro (Petróczy y Palkovics, 2009) (Figura 1).

La segunda fase del trabajo se realizó en el Laboratorio de Control Biológico (Grupo Manejo Biológico de Cultivos)

Tabla 1. Sitios de colecta de muestras de duraznero (*Prunus pérsica* L. Batsch) en el departamento de Boyacá

Municipio	Variedad				Nº muestras	Edad del cultivo (años)
	Dorado	Diamante	Rey negro	Rubidoux		
Sotaquirá	6	5	4	3	5	12
Paipa	5	4	3	3	4	18
Tuta	5	4	3	2	4	10
Nuevo Colón	3	2	3	0	2	6
Jenesano	3	0	3	0	2	10

Fuente: Autores





Figura 1. Signos y síntomas de campo en frutos de cuatro variedades de duraznero afectados por la podredumbre parda (*Monilia* spp.). A y B Dorado; C y D Diamante; E y F Rey Negro; G y H Rubidoux.

Fuente: Autores

adscrito a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia en Tunja (Boyacá). En cada muestra colectada se empleó una nomenclatura que corresponde a un código formado por la inicial de la provincia de procedencia, inicial de la variedad y seguida de un número ordinal de colección.

- **Purificación e identificación morfológica de aislamientos**

Las muestras colectadas con síntomas asociados a la pudrición parda, se ubicaron en cámara húmeda durante ocho días en total oscuridad, para promover el crecimiento de los microorganismos allí presentes. Se realizó el proceso de aislamiento de los hongos según el protocolo de Salgado (2011). Se cortó un trozo de tejido sano y afectado (0,5 cm), se desinfectó en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% por 30 segundos y posteriormente con alcohol al 70% por un minuto. Finalmente, fueron lavados por triplicado con agua destilada estéril (ADE). Los cortes desinfectados se sembraron en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (DIFCO) suplementado con cloranfenicol y se dejaron en incubación a una temperatura de 25 °C.

Posterior, al aislamiento de los hongos, se realizaron cultivos puros, tomando pequeñas porciones del micelio, que se inocularon en cajas Petri con medio PDA y cloranfenicol. Se dejaron en incubación durante 8 días a 25 °C.

Una vez purificados los hongos, se realizó la técnica para obtención de cultivos monospóricos siguiendo el protocolo diseñado por Cañedo & Ames (2004).

En los cultivos monospóricos se procedió a la caracterización morfológica macroscópica de los aislamientos, determinando características de la colonia como coloración, crecimiento y formación de pigmentos difusibles. Igualmente se realizó la descripción microscópica determinando el tamaño, color y forma de los conidios (Lane, 2002).

- **Caracterización molecular**

Esta caracterización se realizó a partir de los cultivos monospóricos de cada aislamiento empleándolos para la extracción de ADN fúngico. Se utilizó el kit de aislamiento de ácidos nucleicos E.Z.N.A.® Fungal DNA kit (Power Soil DNA Isolation).

- **Extracción del ADN**

Se emplearon los aislamientos crecidos en PDA durante 8 días a temperatura ambiente. Se realizó raspado del cultivo y se suspendió en el buffer respectivo para la extracción de ADN fúngico Buffer 2x CTAB (CTAB 10% 8 mL, Tris HCl 1M pH 8.0 4 mL, EDTA 0.5M pH 8.0 160 µl, NaCl 5M 5.6 mL, agua 22.24 mL con volumen final 40 mL) precalentado a 65°C. Se siguió el método de Garcés y Orozco (2003) con algunas modificaciones.

Se adicionó una solución de lisis (100 mM Tris HCl, pH 8.0; 8.2 g NaCl; 0.5 M EDTA 4 mL; 0,5% SDS) a 65 °C por 30 minutos. El precipitado de ADN se centrifugó 10.000 rpm por 5 minutos a -20 °C, adicionando isopropanol frío. Se descartó el sobrenadante y se colectó el ADN, y se resuspendió en 50 µl de buffer TE (5 ml Tris, 0.5 M EDTA 4 ml, pH 8) y se centrifugó por 15 minutos, se descartó el sobrenadante y se dejó secar el precipitado.

Para comprobar la pureza del ADN, las muestras fueron corridas en un gel de agarosa 1.5%, con 0,3 mg.mL<sup>-1</sup> de bromuro de etidio.

El ADN extraído fue cuantificado mediante fluorometría (DyNA Quant 200) siguiendo el protocolo de instrucciones dadas en el mismo equipo.

- **Amplificación y secuenciación**

La amplificación se realizó por PCR con los iniciadores ITS4 e ITS5 de la región del ADN ribosomal fúngico.

Se preparó un buffer 1x, nucleótidos 0,2 mM; MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM; primers 0,1 mM de cada uno; BSA 0,5 mg/ml, Taq polimerasa 0,5 U (GIBCO-BRLâ).

La amplificación se realizó de la siguiente manera: desnaturalización inicial de 5 min a 94 °C, 35 ciclos amplificación a 94°C, desnaturalización por 60 segundos, alineamiento a 55°C por 60 segundos y extensión de 60 minutos durante 35 ciclos a 72 °C; por último, extensión final de 5 minutos a 72 °C. Los productos de amplificación, se separaron por electroforesis en geles de agarosa 1.5% (p/v) en Tris-Acetato-EDTA, 3 µl a 100V por una hora.

La purificación del producto de PCR se realizó mediante precipitación alcohólica, con secuenciación y visualización por electroforesis en gel de agarosa al 1.5% (p/v).

La secuenciación se llevó a cabo utilizando la región ITS, con los oligonucleótidos ITS4 (5´-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3´) e ITS5 (5´-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3´) (White y otros, 1990).

## 2. Resultados

### 2.1. Muestreo y recolección de muestras

En las fincas visitadas en la zona de estudio, la enfermedad se observó en los durazneros, principalmente localizada en el tercio medio y bajo del árbol.

En los frutos se observó una pudrición café a gris (masas de micelio) que causaba la momificación de estos. Las flores presentaban atizonamiento y las ramas necrosis principalmente en los brotes más jóvenes (Figura 2).

Los síntomas observados en las muestras colectadas en los huertos coinciden con las descripciones realizadas en otros caducifolios afectados por este patógeno (Michailides y Spotts, 1990; Cárdenas, 2013). En algunos países se reportan el estado sexual (*Monilinia*), pero en Colombia todavía no hay reportes sobre su presencia (Buriticá, 1999).

- **Purificación y aislamiento.**

Los síntomas de pudrición de fruto se expresan como manchas de diversas tonalidades café. Estas manchas resultan de una infección que inicia con el inóculo del patógeno (esporas y micelio) cuando entra en contacto con el huésped y su posterior propagación afecta los tejidos terminando un una pudrición parda.

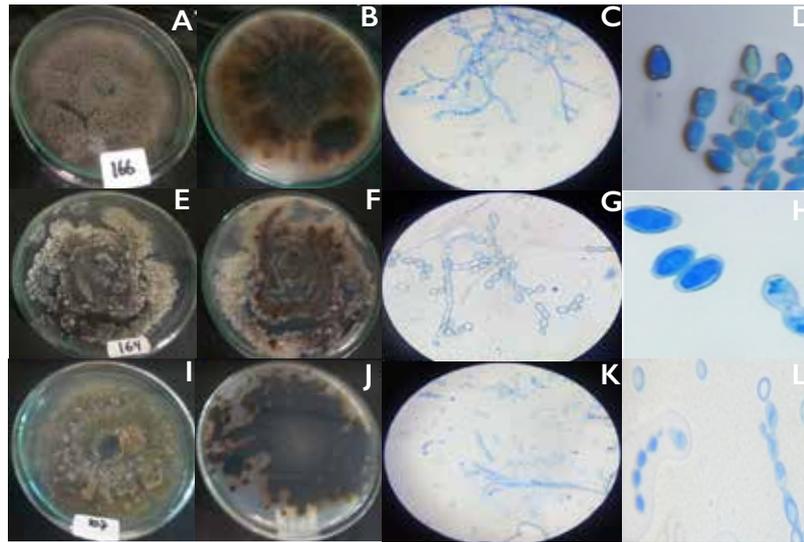
Según Arias y Piñeros (2008), los factores de temperatura y pH son importantes para aislar los microorganismos, ya que provocan su crecimiento o inhibición. En el presente estudio las condiciones para el crecimiento de los hongos encontrados en las muestras de durazno fueron de 25 °C y pH de 3.5.

De las muestras colectadas se obtuvieron 54 aislamientos de hongos, los cuales fueron identificados como *Alternaria*



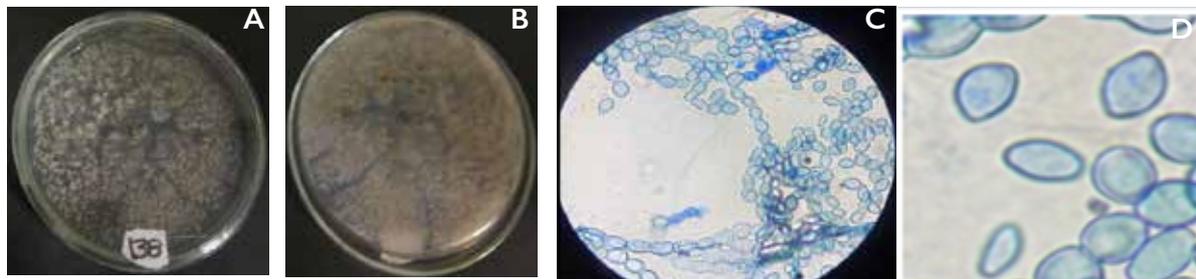
Figura 2. Síntomas de *Monilia* en duraznero. A, flores con atizonamiento; B a H, ramas con necrosis sobre los brotes más jóvenes; E y H frutos con micelio gris a café.

Fuente: Autores



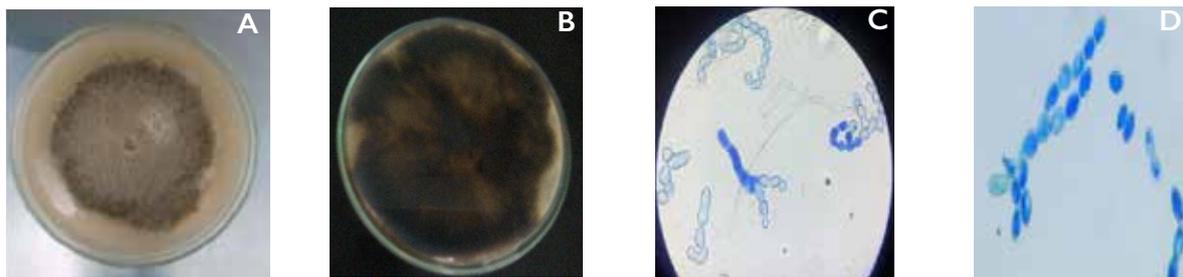
**Figura 3.** Características morfológicas de *Monilia fruticola* en medio PDA. Aislamientos NUREY-164 (línea superior), JEDO-107 (línea media) y JEREY-166 (línea inferior). Vista frontal (A, E, I), vista posterior (B, F y J), ramonidias y conidióforos (C, G y K), conidios con forma elíptica o de limón (D, H y L).

Fuente: Autores



**Figura 4.** Características morfológicas de *Monilia frutigera* en medio PDA. Aislamiento SORU-164 (A) desarrollo micelial circular de color amarillo a café; (B) micelio posterior mostrando una coloración gris; (C) conidióforos; (D) conidios con forma elíptica y de limón.

Fuente: Autores



**Figura 5.** Características morfológicas de *Monilia laxa* en medio PDA. Aislamiento NUDI-104 A) desarrollo micelial circular de color marrón a amarillo y micelio abundante; (B) micelio posterior mostrando una coloración café; (C) conidióforos; (D) conidios con forma lobulada y de limón.

Fuente: Autores

spp. (22 aislamientos; 40,74 %) y *Monilia* spp. (32 aislamientos; 59,25%), estos últimos afectando los frutos de duraznero de las variedades muestreadas: Dorado, Diamante, Rey negro y Rubidoux.

Las características morfológicas para identificación mediante observación, son utilizadas tradicionalmente en estudios

con hongos (Suaad, 2013). Todos los aislamientos correspondientes a *Monilia* se caracterizaron morfológicamente en el laboratorio. Los caracteres morfológicos empleados en la caracterización fueron el tipo de micelio, coloración, tamaño de los conidios, estructura de conidióforos y forma de los conidios (Beales, 2012). La coloración del micelio y características de los conidios y conidióforos coincidieron

con las claves taxonómicas para el género *Monilia* (Barnett y Hunter, 2010; Agrios, 2005).

En las Figuras 3, 4 y 5 se muestran ejemplos de las tres especies de *Monilia* encontradas en el presente estudio.

***Monilia fructicola*:** Se identificaron 20 aislamientos de *Monilia* como *M. fructicola*, correspondiente al 62,5% de los aislamientos. Wiley & Sons (2009) reportaron la misma forma y estructura de conidióforos y conidias. Las colonias de los aislamientos JEREY-166, NUREY-164 y JEDO-107, con micelio polvoso de color café a grisáceo. Los conidióforos, presentan hifas primarias con una o varias ramificaciones antes del primer septo, formadas en cadenas, oscilan entre 12,0-9,21  $\mu\text{m}$ . Los conidios son elipsoides, ovoides o alimonados. Presentan abundante esporulación de color crema.

***Monilia fructigena*:** Se identificaron 8 aislamientos de *Monilia* como *M. fructigena*, lo que corresponde al 25%, de los aislamientos. Van Leeuwen y otros (2002) reporto semejanzas en las estructuras de conidióforos y conidias observadas. El aislamiento SORU-138, mostró colonias de color amarillo a

café. El micelio hialino al envejecer forma una costra oscura. Los macroconidios son elipsoides, ovoides y su tamaño oscilo entre 12,72-10,62  $\mu\text{m}$ , se encuentran cadenas ramificadas, agrupadas de color blanco crema a pardo.

***Monilia laxa*:** Se identificaron 4 aislamientos de *Monilia* como *M. laxa*, correspondiente al 12,5% de los aislamientos. Neri y otros (2007) reporto semejanzas en las estructuras de las cepas observadas como el aislamiento NUDI-104 de color de marrón grisáceo. El micelio hialino al envejecer forma costra oscura. Los macroconidios son elipsoides, ovoides o alimonados, su tamaño oscilo entre 14,28-6,12  $\mu\text{m}$ .

En las Tablas 2 y 3 se resumen algunas características macro y microscópicas generales observadas y las específicas de cada uno de los aislamientos de *Monilia* obtenidos.

Menciona Douglas (2003), que el clima es un factor muy influyente en la aparición de la pudrición, principalmente periodos de alta humedad, temperatura y abundantes lluvias. Los resultados de la investigación indican que las condiciones climáticas en los municipios muestreados tienden a ser

Tabla 2.

Características de las especies de *Monilia* crecidas sobre medio PDA a 25°C.

Características	<i>Monilinia fructicola</i>	<i>Monilinia fructigena</i>	<i>Monilinia laxa</i>
<b>Morfología de la colonia</b>	Color blanco a grisáceo	Color amarillo a café	Color marrón a amarillo
<b>Desarrollo micelial</b>	8.30 cm/día	8,48 cm/día	7.46 cm/día
<b>Color de esporangios</b>	Verde se tornó a café	Crema a blanco	Amarillo
<b>Conidióforos</b>	12,0 - 9,21 $\mu\text{m}$	12,72 - 10,62 $\mu\text{m}$	14,28 - 12 $\mu\text{m}$
<b>Esporulación</b>	Abundante	Escasa	Escasa
<b>Forma de espora</b>	Conidios globosos	Conidios ovoides	Conidios lobulada
<b>Temperaturas</b>	25° C	25° C	25° C

Fuente: Autores

Tabla 3.

Características morfológicas de aislamientos de *Monilia* spp obtenidos de frutos de durazno en Boyacá.

Código	Carácter morfológico							Forma espora	Especie
	Descripción microscópica - microscópicas								
	Macroconidios			Microconidios					
Tamaño	Septos	Forma	Sexual apotecio	Color	Esporu-lación	Anillos concén-tricos			
PARU-21	16,45-12,23	2	Delgado	No	Verde	E	No	O	<i>M. fruticola</i>
PADO-125	17,0-10,9	3	Delgado	No	Verde	E	No	O	<i>M. fruticola</i>
PAREY-126	17,21-10,2	2	Grueso	No	Gris	A	Si	G	<i>M. fruticola</i>
PAREY-127	17,06-14,13	3	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. fruticola</i>

Continúa en la siguiente página

PARU-145	17,02-10,12	2	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. frutícola</i>
PADI-146	16,86-14,53	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
PAREY-147	16,72-14,2	2	Grueso	No	Verde	A	Si	G	<i>M. frutícola</i>
PADI-150	17,6-14,0	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
PARU-151	12,0-9,21	2	Delgado	No	Blanco	E	Si	O	<i>M. frutícola</i>
PADI-154	15,72-13,11	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
PADO-160	17,16-14,2 3	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
PAREY-180	16,52-14,53	2	Grueso	No	Gris	A	Si	G	<i>M. frutícola</i>
SODI-22	17,1-12,89	2	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. frutícola</i>
SODO-24	17,19-14,42	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
SOREY-26	12,28-10,13	3	Delgado	No	Verde	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
SOREY-28	17,3-14,2	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
SODO-29	16,9-14,41	3	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. frutícola</i>
SODO-113	17,16-12,95	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
SORU-138	12,72-10,52	2	Delgado	No	Gris	E	No	O	<i>M. fructigena</i>
SODO-140	17,18-14,35	2	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. frutícola</i>
SODO-144	17,3-14,2	2	Grueso	No	Gris	A	Si	G	<i>M. frutícola</i>
SODO-148	17,16-14,33	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
SODI-153	5,2-14,28	2	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. laxa</i>
SOREY-158	12,16-10,28	2	Grueso	No	Crema	A	Si	O	<i>M. fructigena</i>
SODI-161	17,46-13,13	3	Grueso	No	Gris	A	Si	G	<i>M. frutícola</i>
SOMEM-181	12,72-10,62	3	Delgado	No	Marrón	E	No	G	<i>M. fructigena</i>
SODO-182	18,23-14,54	2	Grueso	No	Marrón	A	Si	G	<i>M. frutícola</i>
SOREY-183	16,83-12,14	2	Grueso	No	Marrón	A	Si	G	<i>M. frutícola</i>
SORU-184	18,18-14,25	2	Grueso	No	Marrón	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
TUDO-23	16,86-14,53	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
TUREY-25	14,1-6,28	2	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. laxa</i>
TUREY-27	16,86-14,53	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
TURU-30	17,5-15,62	2	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. frutícola</i>
TUDI-120	16,23-14,26	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
TUREY-132	16,83-12,14	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>
TURU-135	16,87-13,96	2	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. frutícola</i>
TUREY-155	17,18-14,11	3	Grueso	No	Verde	A	S	O	<i>M. frutícola</i>
TUDO-162	17,3-14,2	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. frutícola</i>

TUDO-168	12,19-10,2	3	Grueso	No	Crema	A	Si	O	<i>M. fructigena</i>
NUDO-100	16,96-14,30	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. fruticola</i>
NURU-102	17,20-13,9	2	Delgado	No	Verde	E	No	O	<i>M. fruticola</i>
NUDI-104	10,8-8,58	2	Delgado	No	Crema	E	No	G	<i>M. fructigena</i>
NUDI-105	14,28-6,12	2	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. laxa</i>
NUREY-128	16,98-14,18	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. fruticola</i>
NUREY-129	14,1-6,12	2	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. laxa</i>
NUREY-162	17,18-14,0	2	Grueso	No	Gris	A	Si	O	<i>M. fruticola</i>
NUREY-164	12,3-10,14	2	Delgado	No	Crema	E	No	O	<i>M. fructigena</i>
JEDO-107	15,42-12,2	2	Grueso	No	Verde	A	Si	O	<i>M. fruticola</i>
JERU-108	12,19-10,2	2	Grueso	No	Crema	A	Si	O	<i>M. fructigena</i>
JERU-109	12,18-5,53	3	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. laxa</i>
JEDI-110	17,0-10,9	2	Delgado	No	Verde	E	No	O	<i>M. fruticola</i>
JEDI-111	14,28-6,12	2	Delgado	No	Blanco	E	No	O	<i>M. laxa</i>
JEREY-130	16,66-12,93	2	Grueso	No	Gris	A	Si	G	<i>M. fruticola</i>
JEREY-166	17,2-13,62	2	Grueso	No	Marrón	A	Si	O	<i>M. fruticola</i>
JEREY-169	14,28-6,2	2	Delgado	No	Blanco	E	No	G	<i>M. laxa</i>

Fuente: Autores

Nota: Convenciones: Forma de macroconidios: D=Delgado, G= grueso; Esporulación microconidios: E= Escasa, A= Abundante; Forma de espora: O= Ovalada, G= Globosa

favorables para la aparición de este fitopatógeno en el cultivo de duraznero, esto en virtud de la presencia de las tres especies de *Monilia* encontradas.

#### • Caracterización molecular

Se realizó la amplificación con los oligonucleótidos de la región ITS4 e ITS5 (Baldwin y Sanderson, 1995) de cada especie, utilizando una PCR múltiple, usando primers específicos en la región del DNA ribosomal fúngico.

Los números de acceso para *M. fruticola* y *M. fructigena* en el genbank NCBI fueron KM652455; KM652469 y KM652466; KM652459, respectivamente.

*M. fruticola* amplificó 532 a 552 pb en 8 de 54 prototipos analizados. *M. fructigena* provocó amplicones de 571 a 603 pb en 2 muestras de las 8 analizadas. *M. laxa* no amplificó en ningún aislamiento.

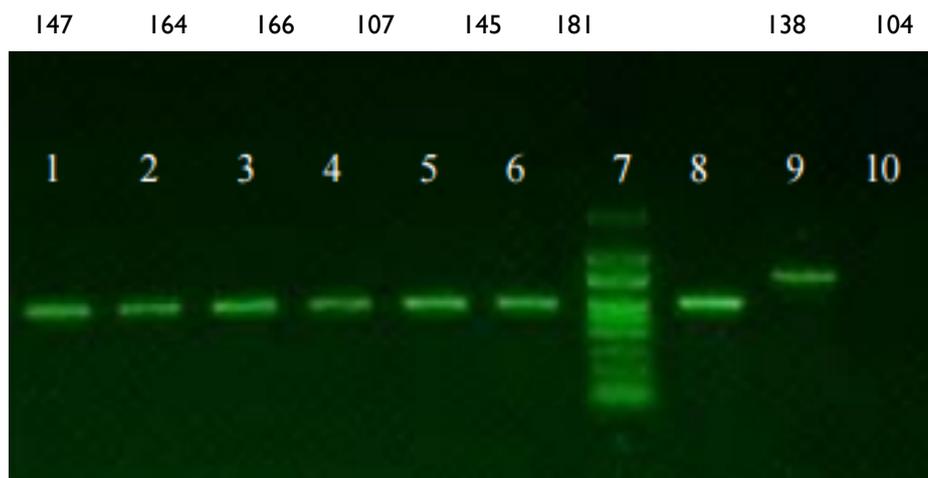
Las cepas que se caracterizaron como *M. fruticola* procedían de los municipios de Paipa, Nuevo Colón y Jenesano; en el caso de *M. fructigena* se obtuvieron en Nuevo Colón

y Sotaquirá. Respecto a estas dos especies halladas en el estudio, los datos morfológicos y moleculares fueron consistentes con la descripción previa de la especie (loos y Frey, 2000).

En el presente trabajo la comparación en la base de datos mostró que los aislamientos identificados como *Monilia fruticola* correspondieron a los códigos: PAREY-147 59-1, JEREY-166 59-3, JEDO-107 59-4, PARU-145 59-5, NUREY-164 59-7 y SOMEM-18159-9. Por otro lado, SORU-138 59-6 se identificó como *M. fructigena* y NUDI-104 59-2 como *M. laxa*.

Todos estos aislamientos analizados tuvieron una identidad y cobertura del 99% (Figura 6).

Estudios registrados por Meng-Jun y otros (2011) demostraron la presencia *M. fructigena* y *M. fruticola* en frutos de durazno en China; las características morfológicas, el tamaño de la espora, color de la colonia y la esporulación fueron similares a las obtenidas en el presente trabajo, apoyando la evidencia que estas dos especies de *Monilia* son las causantes de la pudrición parda de duraznero en Boyacá.



**Figura 6.** Visualización de los productos de PCR en electroforesis en gel de agarosa al 1.5% (p/v) en tampón Tris-Acetato-EDTA. Se observa la concentración y calidad de ADN genómico extraído. *Monilia frutícola*: carril 1 - PAREY-147; carril 2 - NUREY-164; carril 3 - JEREY-166; carril 4 - JEDO-107; carril 5 - PARU-145 y carril 6 -SOMEM-181. *Monilia fructigena*: carril 8-SORU-138. *Monilia laxa*: carril 9 - NUDI- 104

Fuente: Autores

La literatura reporta que las especies *M. laxa* y *M. fructigena* son de origen europeo y *M. fruticola* de origen americano y frecuente en América (Malvárez y otros, 2004), Japón y China (Zhu, 2005) y Australia y por primera vez en Europa en Francia (OEPP, 2003). En Hungría, Italia y España fue reportada por Petróczy y Palkovics (2009).

En el caso de América, en Uruguay se ha reportado en los cultivos de duraznero como agente causal principal de la podredumbre parda a *M. fruticola* (Malvárez y otros, 2004) e igualmente se han hecho estudios con resultados similares en Ecuador (Salgado, 2011).

Aunque las características morfológicas y moleculares, pueden presentar diferencias cualitativas y cuantitativas (Lane, 2002), de acuerdo con los resultados obtenidos, se corroboraría la presencia de *M. fruticola* y *M. fructigena* como agentes causales de la podredumbre en duraznero en Boyacá.

Malvárez *et al.* (2004) mencionan que algunas especies de pueden pasar desapercibidas, si se encuentran en porcentajes cercanos al 1%. No se descarta entonces que *M. laxa* con un 12,5% de presencia, también esté afectando estos frutales en Colombia, a pesar de encontrarse en porcentaje menor respecto de las otras especies encontradas.

De acuerdo con los análisis realizados, en este estudio se determinó que existen tres especies de *Monilia* en Boyacá, similar a lo reportado por Meng-Jun y otros (2011) y Hrustié y otros (2015), quienes utilizando solo caracterización morfológica, identificaron igualmente las tres especies de *Monilia*: *M. laxa*, *M. fructigena* y *M. fruticola* como los agentes causales de la pudrición en fruta de hueso en Serbia.

### 3. Conclusión

El muestreo en el cultivo de duraznero variedades Dorado, Diamante, Rey negro y Rubidoux del departamento de Boyacá presentan incidencia de pudrición parda atribuible a hongos del género *Monilia*.

La caracterización morfológica y molecular permitió identificar tres especies de *Monilia* afectando los cultivos: *M. fruticola* (62,5%), *M. fructigena* (25%) y *M. laxa* (12,5%).

### Agradecimientos

A la Dirección de Investigaciones DIN de la universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia quienes a través de la “Convocatoria interna para la financiación de proyectos de tesis de maestría o doctorado de la UPTC” apoyaron el proyecto con código SGI 1993. Igualmente al Grupo Manejo Biológico de Cultivos (GMBC) de la misma Universidad por el apoyo logístico ofrecido al desarrollo del presente proyecto.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Referencias bibliográficas

1. AGRIOS, George. Plant Pathology. Plant Diseases caused by Fungi. Amsterdam: Elsevier. 2004. 120 p

2. AGRIOS, George. Plant Pathology. In: Plant Diseases caused by Fungi. Amsterdam: Elsevier. 2005. 125 p.
3. ARIAS, Edna & PIÑEROS, Paola. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de guasca y cruz verde. Trabajo de grado para optar el título de Microbiólogas Industriales. Bogotá-Colombia: Universidad Javeriana. 2008. 204 p. Disponible en: <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>
4. ÁVILA, Carold; Robles, Adriana; PINZÓN, Sebastián; MIRANDA, Diego y FISCHER, Gerhard. Tecnologías locales para los sistemas de producción de frutales caducifolios. En: MIRANDA, Diego; FISCHER, G. & CARRANZA, C. (Eds.), Los frutales caducifolios en Colombia: situación actual, sistemas de cultivo y planes de desarrollo. Bogotá, Colombia: Equilibrio Gráfico Editorial Ltda. 2013, p. 115-149. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Gerhard\\_Fischer/publication/259339482\\_Los\\_frutales\\_caducifolios\\_en\\_Colombia\\_Situacion\\_actual\\_caracterizacion\\_de\\_sistemas\\_de\\_produccion\\_y\\_plan\\_de\\_desarrollo/links/00b7d52b194cb4eb31000000/Los-frutales-caducifolios-en-Colombia-Situacion-actual-caracterizacion-de-sistemas-de-produccion-y-plan-de-desarrollo.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Gerhard_Fischer/publication/259339482_Los_frutales_caducifolios_en_Colombia_Situacion_actual_caracterizacion_de_sistemas_de_produccion_y_plan_de_desarrollo/links/00b7d52b194cb4eb31000000/Los-frutales-caducifolios-en-Colombia-Situacion-actual-caracterizacion-de-sistemas-de-produccion-y-plan-de-desarrollo.pdf)
5. BALDWIN, Bruce; SANDERSON, Michael; PORTER, Mark; WOJCIECHOWSKI, Martin; CAMPBELL, Christopher y DONOGHUE, Michael. The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny. In: Annals of the Missouri Botanical Garden. 1995, vol.82, n°2, p. 247-277. <https://doi.org/10.2307/2399880>
6. BARNETT, Horace Leslie & HUNTER, Barry. Illustrated Genera of imperfect fungi. Estados Unidos: Amer Phytopathological Society. 2010. p.80-81.
7. BEALES, Paul. Detection of fungal plant pathogens from plants, soil, water and air. En B. P. In: Lane RC, Fungal Plant Pathogens. 2012. (JDK ed, p. 26-52). CAB International. U.K. p.324
8. BURITICÁ, Pablo. Directorio de Patógenos y enfermedades de las plantas de importancia económica en Colombia. Bogotá: ICA-Universidad nacional. 1999. Disponible en <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CO2001001364>
9. CAÑEDO, Verónica & AMES, Teresa. Medios de cultivos de laboratorio "Manual de Laboratorio para el manejo de Hongos Entomopatógenos". Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP). 2004. 62 p. <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>
10. CÁRDENAS, Julián, & FISCHER, Gerhard. Clasificación botánica y morfología de manzano, peral, duraznero y ciruelo. En: Miranda, G. Fischer, & C. (Carranza, Los frutales caducifolios en Colombia: Situación actual, sistemas de cultivo y plan de desarrollo. 2013, p.24-25. Soc. Col. Cienc. Hort. Disponible en: [https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/33528/67946.pdf?sequence=1&isAllowed=y\\_page=23](https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/33528/67946.pdf?sequence=1&isAllowed=y_page=23)
11. CASTRO, Álvaro & PUENTES, Gloria. Ciruelo y duraznero (*Prunus persica* [L.] Batsch). pp. 2012. 370-392. En: Fischer, G. (ed.). Manual para el cultivo de frutales en el trópico. Bogotá: Produmedios
12. COCA, Mario. Enfermedades del fruto en Durazno (*Prunus persica* L.). (Boletín técnico). Cochabamba, Bolivia: Facultad de Ciencias Agrícolas, pecuarias, forestales y veterinarias. Departamento de fitotecnia y protección vegetal. 2011.
13. CÔTÉ, Marie José. Identification of *Monilinia fructigena*, *M. fructicola*, *M. laxa* and *Monilinia polystroma* on inoculated and naturally infected fruit using multiplex PCR. In: Plant Disease, 2004, p.1219-1225. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.11.1219>
14. DOUGLAS, Sharon. Disease control for home peach orchards. Michigan, EE.UU: Department of Plant Pathology and Ecology. 2003, p. 345. Disponible en: <https://portal.ct.gov/CAES/Fact-Sheets/Plant-Pathology/Disease-Control-for-Home-Peach-Orchards>
15. GARCÉS, Emira & OROZCO, Martha. Algunos problemas patológicos y fisiológicos de la floricultura en Colombia. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia. 2003.
16. GIAYETTO, Alejandro; ROSSINI, Mirta y Pagella, Eduardo. *Monilinia*: Un problema para la exportación de frutas de carozo. En: Revista Fruticultura & Diversificación, 2007, n°54. EEA Alto Valle. Frutihorticultura. Disponible en: <https://inta.gov.ar/documentos/monilinia-fruticola-patogeno-cuarentenario-en-europa-un-problema-en-la-exportacion-de-frutas-de-carozo-argentinas>
17. HERNÁNDEZ, Rosa. Importancia socioeconómica del sector frutícola en Colombia. Trabajo de grado Administrador de Empresas Agropecuarias. Bogotá. Universidad de la Salle. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Programa de Administración de Empresas Agropecuarias. 2009. 165-172 p. Disponible en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/5156/T12.09%20pdf;jsessionid=23D-06CE5363E800CE299603B8E02BCA3?sequence=1>
18. HRUSTIĆ, Jovanna; DELIBAŠIĆ, Goran; STANKOVIĆ, Ivana; GRAHOVAC Mila; KRSTIĆ, Branka; BULAJIĆ, Aleksandra y TANOVIĆ, Brankica. *Monilinia* spp. causing brown rot of stone fruit in Serbia. In: The American Phytopathological Society, 2015, vol.99, n°5, p.709-717. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0732-RE>
19. IOOS, Renauld and FREY, Pascal. Genomic variation within *Monilinia laxa*, *M. fructigena* and *M. fructicola*, and application to species identification by PCR. In: Eur. J. Plant Pathology. 2000, vol.106, p.373-378. <https://doi.org/10.1023/A:1008798520882>
20. LANE, C.A synoptic key for differentiation of *Monilinia fructicola*, *M. fructigena* and *M. laxa*, based on examination of cultural characters. 489-493. Bull. OEPP/EPPO. Bull, 2002, vol. 32, n°3, p.489-493. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2338.2002.00595.x>
21. MADR, Ministerio de Agricultura. Anuario estadístico de frutas y hortalizas. En M. d Rural Bogotá. 2015.
22. MALVÁREZ, Gabriela; RODRÍGUEZ, Andrea; AGUILAR, Cecilia; SILVERA, Elisa y MONDINO, Pedro. *Monilinia fructicola*, the only *Monilinia* species currently causing brown rot of peach (*Prunus persica*) in Uruguay. In: Fitopatología. 2004, vol.39, n°3, p.126-132. <https://www.cabi.org/ISC/abstract/20053037075>
23. MENDOZA, Adalberto; HERNÁNDEZ, Rosa; RODRÍGUEZ, Homero y RANGEL, Alberto. Tratado de Botánica Económica Moderna. Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro, Buenavista. 2010.

24. MENG-JUN, Hu; KERIK, Cox; GUIDO, Schnabel and CHAO-XI Luo. Monilinia Species Causing Brown Rot of Peach in China. In: PLOS PATHOGENS ANTIFUNGAL IMMUNITY. 2011, p. 342-364. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024990>
25. MICHAILEDIS, Themis & SPOTTS, Robert. Postharvest diseases of pome and stone fruits caused by *Mucor piriformis* in the Pacific Northwest and California. In: Plant Disease. 1990, vol.74, n°8, p.537-543. [https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1990Articles/PlantDisease74n08\\_537.PDF](https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1990Articles/PlantDisease74n08_537.PDF)
26. MIRANDA, Diego & CARRANZA, Carlos. Caracterización, clasificación y tipificación de sistemas productivos de caducifolios, con énfasis en duraznero, manzano, ciruelo y peral. p.87-105. En: D. Miranda, G. Fischer & C. Carranza (Eds), Los frutales caducifolios en Colombia: situación actual, sistema de cultivo y planes de desarrollo. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas, Bogotá, Colombia: Equilibrio Gráfico Editorial Ltda. 2013a. [https://www.researchgate.net/profile/Gerhard\\_Fischer/publication/259339482\\_Los\\_frutales\\_caducifolios\\_en\\_Colombia\\_Situacion\\_actual\\_caracterizacion\\_de\\_sistemas\\_de\\_produccion\\_y\\_plan\\_de\\_desarrollo/links/00b7d52b194cb4eb31000000/Los-frutales-caducifolios-en-Colombia-Situacion-actual-caracterizacion-de-sistemas-de-produccion-y-plan-de-desarrollo.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Gerhard_Fischer/publication/259339482_Los_frutales_caducifolios_en_Colombia_Situacion_actual_caracterizacion_de_sistemas_de_produccion_y_plan_de_desarrollo/links/00b7d52b194cb4eb31000000/Los-frutales-caducifolios-en-Colombia-Situacion-actual-caracterizacion-de-sistemas-de-produccion-y-plan-de-desarrollo.pdf)
27. MIRANDA, Diego & CARRANZA, Carlos. Zonificación actual de los sistemas de producción de frutales caducifolios en Colombia. En: Miranda, G. Fischer, & C. Carranza, Los frutales caducifolios en Colombia: Situación actual, sistemas de cultivo y planes de desarrollo. Soc. Col. Cien. Hort. 2013b. p.67-86. [https://www.researchgate.net/profile/Gerhard\\_Fischer/publication/259339482\\_Los\\_frutales\\_caducifolios\\_en\\_Colombia\\_Situacion\\_actual\\_caracterizacion\\_de\\_sistemas\\_de\\_produccion\\_y\\_plan\\_de\\_desarrollo/links/00b7d52b194cb4eb31000000/Los-frutales-caducifolios-en-Colombia-Situacion-actual-caracterizacion-de-sistemas-de-produccion-y-plan-de-desarrollo.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Gerhard_Fischer/publication/259339482_Los_frutales_caducifolios_en_Colombia_Situacion_actual_caracterizacion_de_sistemas_de_produccion_y_plan_de_desarrollo/links/00b7d52b194cb4eb31000000/Los-frutales-caducifolios-en-Colombia-Situacion-actual-caracterizacion-de-sistemas-de-produccion-y-plan-de-desarrollo.pdf)
28. MITIDIERI, Mariel; CONSTANTINO, Armando; BRAMBILLA, M; GABILONDO, Julieta. and BIMBONI, Graciela. Effect of different early/season sprays on blossom blight incidence and yield in peach orchards. Acta Horticulturae, 713: VI International Peach Symposium. 2005, p. 115-128. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.713.61>
29. MONDINO, Pedro. Enfermedades fungicas del duraznero. 2002. file://localhost/Disponible en: <http://www.pv.fagro.edu.uy:fitopato/enfermedades:Monilinia.htm>
30. MONDINO, Pedro. Sintomatología, etiología y características epidemiológicas de la enfermedad. En: MITIDIERI, Mariel y CASTILLO, José Antonio (Eds). Manejo de la Podredumbre morena (*Monilinia fructicola* y *M. laxa*) y en huertos frutales de Uruguay, Chile, Bolivia, Brasil y Argentina. 2014, p. 35-4, p.86. [https://www.researchgate.net/profile/Jose\\_Antonio\\_Castillo2/publication/277721033\\_Manejo\\_de\\_la\\_Podredumbre\\_Morena\\_Monilinia\\_fructicola\\_y\\_M\\_laxa\\_en\\_huertos\\_frutales\\_de\\_Uruguay\\_Chile\\_Bolivia\\_Brasil\\_y\\_Argentina/links/557221c008aeb6d8c017374e/Manejo-de-la-Podredumbre-Morena-Monilinia-fructicola-y-M-laxa-en-huertos-frutales-de-Uruguay-Chile-Bolivia-Brasil-y-Argentina.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jose_Antonio_Castillo2/publication/277721033_Manejo_de_la_Podredumbre_Morena_Monilinia_fructicola_y_M_laxa_en_huertos_frutales_de_Uruguay_Chile_Bolivia_Brasil_y_Argentina/links/557221c008aeb6d8c017374e/Manejo-de-la-Podredumbre-Morena-Monilinia-fructicola-y-M-laxa-en-huertos-frutales-de-Uruguay-Chile-Bolivia-Brasil-y-Argentina.pdf)
31. NERI, Fiorella. MARI, Marta, BRIGATI, Stefano and BERTOLINI, Paolo. Fungicidal activity of plant volatile compounds for controlling *Monilinia laxa* in stone fruits. Plant Disease. 2007, vol.91, p. 30-35. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/PD-91-0030>
32. OEPP, E. J. Diagnostic protocols for regulated pests. Protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés. *Monilinia fructicola*. In: EPP Bulletin. 2003, p. 281-288. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1365-2338.2003.00639.x>
33. OGAWA, Joseph. Compendium of Stone Fruit Diseases. American Phytopathological Society. 1995.
34. PETRÓCZY Marietta & PALKOVICS, László. (2009). First Report of Brown Rot Caused by *Monilinia fructicola* on Imported Peach in Hungary. Department of Plant Pathology, Corvinus University of Budapest. 2007, vol.125, n°2, p.343-347. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1094/PD-90-0375B>
35. PUENTES, Gloria; RODRÍGUEZ, Luis y BERMÚDEZ, Lilia. Análisis de grupo de las empresas productoras de frutales caducifolios del departamento de Boyacá. Agr. Col. 2008, vol. 26, n°2, p. 146-154. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/13929/14648>
36. SALGADO, Cristina. Identificación molecular de especies de *Monilinia* spp. que afectan la pudrición de durazno, *Prunus persica*, en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha y Tungurahua. Trabajo de grado Licenciatura en Biotecnología. Quito. Universidad San Francisco de Quito. Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales 2011, p.17-22. <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/798>
37. SCATONI, Iris. Manual del duraznero. Manejo integrado de plagas y enfermedades. Montevideo, Uruguay: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria: Soria J.Ed. 2010. <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2796/1/18429300810095644.pdf>
38. SUAAD, Alwakeel. Molecular identification of isolated fungi from stored apples in Riyadh, Saudi Arabia. Saudi Journal of biological Sciences 2013, vol.20, n°4, p.311-317. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.05.002>
39. VAN LEEWEN, Gerard; HOLB, Imre and JEGER, Mike. Factors affecting mummification and sporulation of pome fruit infected by *Monilinia fructigena* in Dutch orchards. Plant Pathology. 2002, vol.51, p.787-793. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2002.00789.x>
40. WHITE, Thomas; BRUNS, Thomas; LEE, Steven and TAYLOR, John. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetic. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ and White TJ (Eds.). PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications. San Diego. Academic Press. 1990, vol.3 n°8 p.315-332 Disponible en: <https://nature.berkeley.edu/brunslab/papers/white1990.pdf>
41. WILEY, John, & SONS, Limited. *Monilinia fructicola*. Organización Europea y Mediterránea de Protección de Plantas Bulletin. 2009. PM 7/18(2), vol.39, p.337-343.
42. ZHU, Xiaoqiong; CHEN, Xia-yu. LUO; Yong and GUO and Li-Yun. First report of *Monilinia fructicola* on peach and nectarine in China. Plant Pathology. 2005, vol.54, n°4, p.575. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01199.x>