



## Inducers of resistance to *Botrytis cinerea* in postharvest strawberry fruits

## Inductores de resistencia a *Botrytis cinerea* en frutos de fresa poscosecha

Ortega Martínez, L.D.<sup>1</sup>, Ocampo Mendoza, J.<sup>2</sup>, Zarate Rivas, F.<sup>1</sup>, Olvera Salinas, C.<sup>1</sup>, Rojas Reyes, F.<sup>1</sup>, Salazar Magallón, J.<sup>1</sup>, Pérez Armendáriz, B.<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, Departamento de Ciencias Biológicas 11 poniente 2316 Colonia Barrio de Santiago. C.P. 72410. Puebla, Puebla, México.

<sup>2</sup>Colegio de Posgraduados Campus Puebla. Km 125.5 Carretera Federal México Puebla. C.P. 72760, Puebla, Puebla, México.

### ABSTRACT

Strawberry is a high economic value crop, which in postharvest is highly susceptible to the attack of the pathogenic fungus *Botrytis cinerea*; for its control, one of the widely used methods are pesticides; however, exposure to these remains an important health and environmental problem. In this sense, the need to seek alternatives for sustainable management arises. The objective of the present work was to evaluate the effect of salicylic and ascorbic acids as inducers of resistance to *Botrytis cinerea* in post-harvest strawberry fruits. Strawberry plants (*Fragaria x ananassa* Duch cv. *Camarosa*) were used twice weekly with solutions of salicylic acid, ascorbic acid and water as a control. The results showed significant differences in salicylic acid at a concentration of 1.5  $\mu\text{M}$ , with less than 1 % damage in the fruits, despite not inhibiting the appearance of the fungus, delaying its appearance, besides increasing the yield so that it can represent an alternative to the use of pesticides.

#### Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: September 2<sup>nd</sup> 2016.

Accepted/Aceptado: March 21<sup>st</sup> 2017.

### RESUMEN

La fresa es un cultivo de alto valor económico, el cual es altamente susceptible al ataque del hongo patógeno *Botrytis cinerea* en poscosecha, para su control, uno de los métodos utilizados ampliamente son los plaguicidas, no obstante, la exposición a éstos sigue siendo un importante problema de salud y ambiental. En este sentido, surge la necesidad de buscar alternativas para el manejo sustentable. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de los ácidos salicílico y ascórbico como inductores de resistencia a *Botrytis cinerea* en frutos de fresa poscosecha. Se utilizaron plantas de fresas (*Fragaria x ananassa* Duch cv. *Camarosa*), fueron asperjadas dos veces por semana con soluciones de ácido salicílico, ascórbico y agua como control. Los resultados mostraron diferencias significativas destacando el ácido salicílico a una concentración de 1.5  $\mu\text{M}$ , con un daño menor al 1 % en los frutos, a pesar de no inhibir la aparición del hongo, retardo su aparición, además aumento el rendimiento por lo que este puede representar una alternativa al uso de plaguicidas.

### PALABRAS CLAVE

Ácido ascórbico, Ácido salicílico, Resistencia inducida.

#### \*Corresponding Author:

Pérez Armendáriz, Beatriz, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Departamento de Ciencias Biológicas 11 poniente 2316 Colonia Barrio de Santiago. C.P. 72410 Puebla, Puebla, México. Phone: +52(222) 229 94 00 ext. 7971. E-mail.: [beatriz.perez@upaep.mx](mailto:beatriz.perez@upaep.mx)

---

## KEY WORDS

---

Ascorbic acid, Salicylic acid, Induced resistance.

---

### Introduction

Strawberry (*Fragaria* sp.) is a non-climacteric fruit, highly perishable, susceptible to mechanic damage, water loss, physiological and microbiological deterioration, causing the decrease in yield and commercial quality (Ruiz and Piedrahita, 2012).

The damage by microorganisms generates firmness, color and taste loss, caused by the rotting of the fruit and consequent loss of its economic value, since they lead to a decrease in the products life (Thompson, 2003).

Despite the development of technology, great losses in postharvest are still present, being their quantification difficult; it is calculated that they can reach, depending of each country, up to a 50 % of the production, in which damages caused by microorganisms are the most important, highlighting the phytopathogen fungi, mainly *Botrytis cinerea* (Batta *et al.*, 2004; SAGARPA, 2008), which is capable of affecting 95 % of the fruit after 48 hours postharvest (Chaves and Wand, 2004), hence it is considered as the most important disease of the strawberry (Averre *et al.*, 2003).

In the control of the pathogens, one of the most used methods widely used around the world are pesticides (Muiño *et al.*, 2007), as benzimidazoles, dicarboximides, anilinopyrimidines and carboxamides (Russel, 2004), Pyraclostrobin + Epoxiconazole (Ayala *et al.*, 2014); however, the exposure to these is still a health and environmental problem, causing collateral effects due to their low specificity (EEA, 2013).

In the same way, combat strategies such as the use of refrigeration, atmosphere modification and short wave ultraviolet radiation, in less frequency due to its high cost, are used (Guédez *et al.*, 2009; Beltrán *et al.*, 2010; Plascencia, 2011).

Likewise, edible coatings applications have shown to be a promising tool to improve the quality and widen storage and lifespan (Vargas *et al.*, 2006; Restrepo *et al.*, 2010). On the

### Introducción

La fresa (*Fragaria* sp.) es un fruto no climatérico, altamente perecedero, susceptible a daños mecánicos, pérdidas de agua, deterioro fisiológico y microbiológico ocasionando la disminución en rendimiento y calidad comercial (Ruiz y Piedrahita, 2012).

El daño por microorganismos genera pérdida de firmeza, color y sabor ocasionado por la pudrición del fruto y consecuente pérdida de su valor económico pues conducen a una disminución en la vida útil (Thompson, 2003).

A pesar de los avances y el desarrollo de la tecnología, se siguen presentando grandes pérdidas en poscosecha, siendo difícil su cuantificación; se calcula que pueden alcanzar, dependiendo del país, hasta un 50 % de la producción, en el que los daños causados por microorganismos son de los más importantes, entre los que destacan los hongos fitopatógenos principalmente *Botrytis cinerea* (Batta *et al.*, 2004; SAGARPA, 2008), el cual es capaz de afectar el 95 % de los frutos después de 48 horas de cosechados (Chaves y Wang, 2004), por lo que es considerado como la enfermedad más importante de la fresa (Averre *et al.*, 2003).

En el control de los patógenos, uno de los métodos utilizados ampliamente en todo el mundo son los plaguicidas (Muiño *et al.*, 2007), como bencimidazoles, dicarboximidas, anilino pirimidinas y carboxamidas (Russel, 2004), Pyraclostrobin + Epoxiconazole (Ayala *et al.*, 2014); sin embargo, la exposición a éstos sigue siendo un importante problema ambiental y de salud, ya que ocasionan efectos colaterales, debido a su baja especificidad (EEA, 2013).

De la misma forma, se emplean estrategias de combate como el uso de la refrigeración, modificación de atmosferas y radiación ultravioleta de onda corta, aunque en menor frecuencia debido a su alto costo económico (Guédez *et al.*, 2009; Beltrán *et al.*, 2010; Plascencia, 2011).

Así mismo, las aplicaciones de recubrimientos comestibles han demostrado ser una herramienta prometedora para mejorar la calidad y ampliar el almacenamiento y la vida útil (Vargas *et al.*, 2006; Restrepo *et al.*, 2010). Por otra parte, se ha empleado el control biológico con microorganismos, organismos, y extractos botánicos (Fan *et al.*, 2009; Zong *et al.*, 2010; Mekbib *et al.*, 2011; Quezada, 2012); no obstante, en general, la utilización de agentes de control biológico en la agricultura carece de una respuesta clara,

other hand, biological control with microorganisms, organisms and botanic extracts has been used (Fan *et al.*, 2009; Zong *et al.*, 2010; Mekbib *et al.*, 2011; Quezada, 2012); nevertheless, the utilization of biological control agents in agriculture lacks a clear response, which is translated as agricultures' disbelief (Milagrosa *et al.*, 2010).

In addition, resistance inductors are used, which are substances impeding or delaying the entrance of pathogens, and limiting their activity in the tissue or infected organ, and have no direct effect or specific activity on the phytopathogens, existing numerous substances, such as phosphates, phosphides, ethylene acids and flavonoids (Gómez y Reis, 2011). Hence, diverse works have confirmed their implication in defense mechanisms (Mesbah *et al.*, 2007; Shafiee *et al.*, 2010; Hongyin., 2010; Afsaneh *et al.*, 2013; Mohammadreza and Ali, 2015).

Therefore, the aim of this work was to evaluate the effect of the salicylic and ascorbic acids as resistance inductors in *Botrytis cinerea* in postharvest strawberry fruits.

## Materials and Methods

The research was developed from June 2015 to March 2016, in the facilities of the Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, located at a latitude 19° 2' 56" L.N. 98° 13' 02" L.W. and 2,130 meters above sea level. During growth and developments of the culture, average maximum and minimum temperatures were 28 and 11.2 °C, respectively. Strawberry plants (*Fragaria x ananassa* Duch cv. *Camarosa*) were used, non-climacteric fruit and very short lifespan (Sanz *et al.*, 1999); they were cultured in plastic pots of 9 liters capacity; the substrate used consisted of volcanic stone (tezontle) with the size of a particle <10.5 mm and vermicompost proportion 3:1 (v/v). The nutrition solution proposed by Steiner (1961) was used and applied according to the phenologic stage of the culture by drop irrigation.

Two plants per pot were established, with a density of 12 plants m<sup>2</sup>, with a separation of 30 cm between them. A topological arrangement in staggered rows was used, adjusting distribution in a surface of 60 m<sup>2</sup>, 4 pots with 8 plants were evaluated per experimental unit.

After 25 days of transplant, plants were sprinkled with water twice a week, eight times with 6 different solutions made

lo que se traduce en una incredibilidad de los agricultores (Milagrosa *et al.*, 2010).

De igual manera, se utilizan inductores de resistencia que son sustancias que actúan impidiendo o retrasando la entrada de patógenos, y limitando consecuentemente su actividad en el tejido u órgano infectado, no tienen efecto directo o actividad específica sobre los fitopatógenos y existen numerosas sustancias entre las que destacan los fosfatos, fosfitos, ácidos etileno y flavonoides (Gómez y Reis, 2011); en este sentido, diversos trabajos han confirmado su implicación en los mecanismos de defensa (Mesbah *et al.*, 2007; Shafiee *et al.*, 2010; Hongyin., 2010; Afsaneh *et al.*, 2013; Mohammadreza y Ali, 2015).

Por lo antes mencionado, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de los ácidos salicílico y ascórbico como inductores de resistencia a *Botrytis cinerea* en frutos de fresa poscosecha.

## Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló de junio de 2015 a marzo de 2016 en las instalaciones de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, situada a una latitud de 19° 2' 56" L.N. 98° 13' 02" L.W. y 2,130 metros sobre el nivel del mar. Durante el crecimiento y desarrollo del cultivo las temperaturas medias máxima y mínima fueron de 28 y 11.2 °C, respectivamente. Se utilizaron plantas de fresas (*Fragaria x ananassa* Duch cv. *Camarosa*), fruto no climatérico y vida útil muy corta (Sanz *et al.*, 1999), se sembraron en macetas de plástico con capacidad de 9 litros, el sustrato utilizado consistió de piedra volcánica (tezontle) con tamaño de partícula <10.5 mm y lombricomposta proporción 3:1 (v/v). Se utilizó la solución nutritiva propuesta por Steiner (1961), aplicada según la etapa fenológica del cultivo mediante riego por goteo.

Se establecieron dos plantas por maceta, con una densidad de 12 plantas m<sup>2</sup>, con una separación de 30 cm entre ellas. Se utilizó un arreglo topológico a tresbolillo ajustando la distribución en una superficie de 60 m<sup>2</sup>, se evaluaron 4 macetas con 8 plantas por unidad experimental.

Después de los 25 días de trasplante, las plantas fueron asperjadas dos veces por semana por ocho ocasiones con 6 diferentes soluciones a partir de los ácidos salicílicos, ascórbico y agua, la cual fue utilizado como control

**Table 1.**  
**Acids evaluated for *Botrytis cinerea* resistance in post-harvest strawberry fruits**

**Tabla 1.**  
**Ácidos evaluados para resistencia a *Botrytis cinerea* en frutos de fresa poscosecha**

Treatment	$\mu\text{M}$	pH	Electrical conductivity $\mu\text{S}$
Salicylic acid	1	6.8	1837
Salicylic acid	1.5	5.9	1849
Ascorbic acid	1	6.4	1835
Ascorbic acid	1.5	6.0	1841
Salicylic acid+ Ascorbic acid	2	5.3	1870
Witness	0	7.1	1810

from salicylic, ascorbic acids, and water, used as control (Table 1). They were prepared following the method proposed by Gutierrez-Coronado *et al.*, (1998). Due to the instability of the acids, optimum environmental temperature, wind,  $\text{wats/m}^2$  and relative humidity factors were considered; from the information, its application was made between 18:00 and 20:00 h.

Fruit collection was made every 120 h during 60 days; 15 fruits per treatment with a maturity scale 6 according to the official Mexican norm NMX-FF-062-SCFI- were selected and placed in thermoformed containers, of bio-oriented polystyrene, with perforations (15 fruits/box), stowed at room temperature; a follow-up was made every 24 h during 120 h; temperature and relative humidity of containers was determined by a Thermo.hygrometer USB/Data Logger Marca CEM Meters ®.

Fruits with rotting symptoms were quantified using the index of severity damage caused by the pathogen, performed in accordance to the proposed by Alvarado *et al.*, (2011), hence a pictographic diagram was made and determined on the fruit surface with damage degrees in % according to an established scale with the following characteristics: ; 0 % = 0; 1 = 1-5 %; 2 = 6-15 %; 3 = 16-45 %; 4 = 46-75 % and 5 = 76-100 % of visual damage per fruit. The model is based in the monitoring and observation of the diameter of the lesions of the fruits every 24 h during 5 days, during two months of harvest and considering the arithmetic mean, recording the partial advance of the total infection of the fruit in time.

(Tabla 1). Fueron preparadas siguiendo la metodología propuesta por Gutierrez-Coronado *et al.*, (1998). Debido a la inestabilidad de los ácidos se consideraron los factores óptimos de temperatura ambiental, viento,  $\text{wats/m}^2$  y humedad relativa, a partir de la información se consideró su aplicación entre las 18:00 y 20:00 h.

La recolección de frutos se realizó cada 120 h, durante 60 días, se seleccionaron 15 frutos por tratamiento con escala de madurez 6 según la norma NMX-FF-062-SCFI- y se dispusieron de contenedores termoformados de poliestireno biorientado, con perforaciones (15 frutos/caja) estibados a temperatura ambiente, se realizó seguimiento cada 24 h durante 120 h, la temperatura y la humedad relativa dentro de los contenedores, se determinó mediante un Termo-higrómetro USB/Data Logger Marca CEM Meters ®.

Se cuantificaron los frutos con síntomas de pudrición mediante el índice de severidad de daño causado por el patógeno, se realizó de acuerdo con el modelo propuesto por Alvarado *et al.*, (2011) para lo cual se elaboró un diagrama pictográfico y se determinó sobre la superficie de los frutos con grados de daño en % según una escala establecida con las siguientes características; 0 % = 0; 1 = 1-5 %; 2 = 6-15 %; 3 = 16-45 %; 4 = 46-75 % y 5 = 76-100 % de daño visual por fruto. El modelo se basa en el seguimiento y observación del diámetro de las lesiones de los frutos cada 24 h durante 5 días, durante dos meses de cosecha y considerando la media aritmética, registrando el avance parcial de la infección total del fruto en el tiempo.

El reconocimiento de las colonias fungosas se realizó mediante el método de impronta (López *et al.*, 2006), poste-

The acknowledgement of the fungi colonies was made through the imprint method (López *et al.*, 2006); after, they were observed under the microscope with a 40X extension. The identification was made based in the characteristics of the mycelium, colony color, conidiophores form, and color, size and shape of conidia. For the species identification, specialized description by Ellis (1971) and Crous *et al.*, (2009) were used, and at genre level it was made by comparing the morphologic structures of the fungus with the keys of Barnett and Hunter (2006).

The experimental design was made in randomized blocks; 5 treatments were evaluated (Table 2), with 8 repetitions, each experimental unit was constituted by 15 fruits of 20 plants, response variables were yield and damage caused by *Botrytis cinerea*.

The ANOVA variance analysis was used and of correlations to evaluate the effect of acids with the statistical package SPSS version 19.

## Results and Discussion

From the 24 h postharvest, the means of each evaluation showed significant statistical differences between treatments, due to the expression of the pathogen

riormente se observaron al microscopio con ampliación 40X. La identificación se realizó con base en las características del micelio, color de la colonia, forma de conidióforos; así como el color, tamaño y forma de los conidios. Para la identificación de especie se utilizaron las descripciones especializadas de Ellis (1971) y Crous *et al.*, (2009) y a nivel de género se realizó comparando las estructuras morfológicas del hongo con las claves de Barnett y Hunter (2006).

El diseño experimental se realizó en bloques completamente al azar, se evaluaron 5 tratamientos (Tabla 2), con 8 repeticiones, cada unidad experimental estuvo constituida por 15 frutos de 20 plantas, las variables de respuesta fueron el rendimiento y daño causado por *Botrytis cinerea*.

Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) y de correlaciones para evaluar el efecto de los ácidos con el paquete estadístico SPSS versión 19.

## Resultados y Discusión

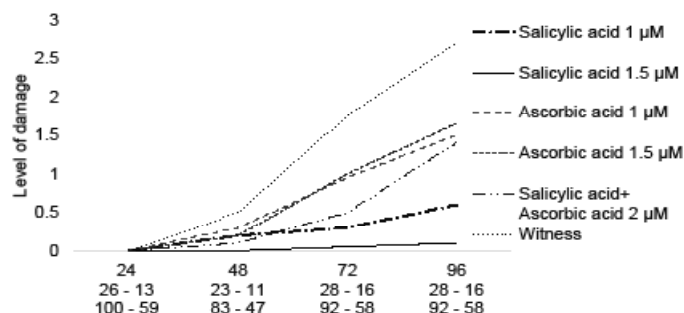
A partir de las 24 h de poscosecha, las medias de cada evaluación mostraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, debido a la expresión del patógeno en la superficie de los frutos del tratamiento testigo, es importante recalcar que la humedad relativa fue

**Table 2.**  
**Damage caused by *Botrytis cinerea* in post-harvest strawberry fruits**  
**Tabla 2.**  
**Daño causado por *Botrytis cinerea* en frutos de fresa post-cosecha**

Treatment $\mu\text{M}$	$\mu\text{M}$	Post-harvest hours			
		24	48	72	96
Salicylic acid	1	0 <sup>a</sup>	0.2 <sup>a</sup>	0.30 <sup>a</sup>	0.6 <sup>a</sup>
Salicylic acid	1.5	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.5 <sup>a</sup>	0.1 <sup>a</sup>
Ascorbic acid	1	0 <sup>a</sup>	0.5 <sup>ab</sup>	0.95 <sup>b</sup>	1.5 <sup>b</sup>
Ascorbic acid	1.5	0 <sup>a</sup>	0.2 <sup>a</sup>	1.6 <sup>c</sup>	1.6 <sup>b</sup>
Salicylic acid+ Ascorbic acid	2	0 <sup>a</sup>	0.1 <sup>a</sup>	0.5 <sup>ab</sup>	1.4 <sup>b</sup>
Witness	0	.3 <sup>b</sup>	0.5 <sup>b</sup>	1.7 <sup>c</sup>	2.7 <sup>c</sup>

Different letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).



**Figure 1. Incidence of *Botrytis cinerea* in post-harvest strawberry.**  
**Figura 1. Incidencia de *Botrytis cinerea* en fresa post-cosecha.**

in the surface of the fruits of the control treatment; it is important to mention that relative humidity was higher than 90 %, favorable condition to the growth and development of the fungus *Botrytis cinerea* (Figure 1).

**48 hours postharvest:** the fungus had expressed in all treatments, however, the higher damage was in control treatment (0.5), meaning that the damage was lower to 1 % in the total of the fruits and with no significant statistical differences with the treatment of ascorbic acid 1 µM; likewise, in the remaining treatments, damage was lower and with no significant differences.

**72 hours postharvest:** damage in the treatments increased in consequence to the increase of the fungus, control along with ascorbic acid 1.5 µM showed higher damage, 4.8 % from the total of the fruits.

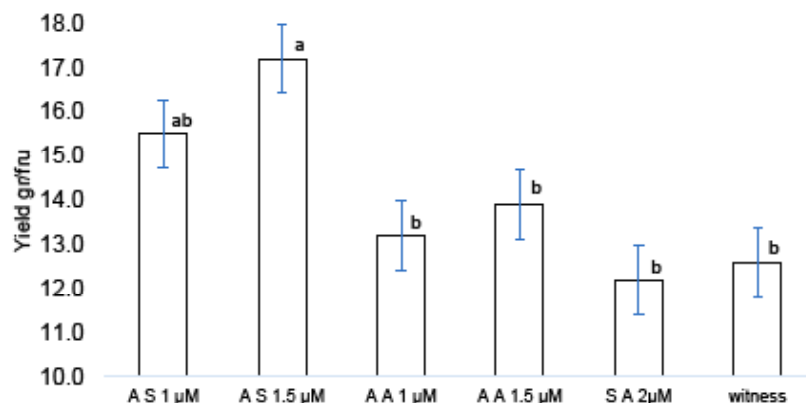
**96 hours postharvest:** in the total of treatments the fungus developed, the tissue presented a watery texture, and a growth of mycelium was identified; however, the salicylic acid treatment 1.5 µM showed less damage among the treatments, which was not higher than 1 % of total damage in the fruits, which influences in the extension of shelf life, allowing to maintain, in general terms, commercial quality, except for the significant decrease of firmness. In that respect, there were no highly significant differences ( $p \leq 0.5$ ) with the treatment 1 µM of salicylic acid, and significant differences were found between the other treatments, where control showed a higher deterioration, with a 14 % damage constant.

mayor a 90 %, condición favorable para el crecimiento y desarrollo del hongo *Botrytis cinerea* (Figura 1).

**48 h posteriores a la cosecha:** se había expresado el hongo en todos los tratamientos, no obstante el mayor daño fue en el tratamiento testigo (0.5), es decir, el daño era menor al 1 % del total de los frutos y sin diferencias estadísticas significativas con el tratamiento Ácido ascórbico 1 µM. así mismo, en los tratamientos restantes el daño fue menor, y sin diferencias estadísticas significativas.

**72 horas posteriores:** el daño en los tratamientos aumentó consecuencia del incremento del hongo, el tratamiento testigo junto con el Ácido ascórbico 1.5 µM mostraron el mayor daño, 4.8 % del total de los frutos.

**96 horas de poscosecha:** en el total de los tratamientos se desarrolló el hongo, pues el tejido presentó una textura aguanosa, y un crecimiento de micelio el cual fue identificado, sin embargo, en el tratamiento de ácido salicílico 1.5 µM **mostró el menor daño entre los tratamientos** el cual no fue mayor al 1 % de daño total en los frutos, lo que influye en la prolongación de la vida de anaquel, permitiendo mantener, en términos generales, la calidad comercial, con excepción de una significativa disminución de la firmeza. Al respecto, no hubo diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.5$ ) con el tratamiento 1 µM de ácido salicílico y se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos restantes donde el testigo mostró un deterioro superior lo que venía siendo una constante con 14 % de daño.



**Figure 2. Effect of foliar application of different concentrations of salicylic and ascorbic acids on strawberry yield.** A S Salicylic acid+ AA Ascorbic acid. Different letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

**Figura 2. Efecto de la aplicación foliar de diferentes concentraciones de los ácidos salicílico y ascórbico en rendimiento de fresa.** AS: ácido salicílico; AA: ácido ascórbico. Letras diferentes en las barras indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0.05$ ).

On the other hand, a favorable effect on the foliar application of acids was found, especially on the plant yield, results showed significant differences between treatments (Figure 2) highlighting the use of salicylic acid at a concentration of 1.5  $\mu\text{M}$  with an average weight of the fruit of 17.2 gr with no significant differences with treatment of the same acid at a 1  $\mu\text{M}$  concentration. The treatment of the mix of salicylic-ascorbic acids, despite showing a reduction of damage by the pathogen, also showed a lower yield, even lower than control with 12.2 gr per fruit; nevertheless, no differences with the ascorbic acid in different concentrations were found.

Maximum relative humidity was 100 % and minimum was 17 %, also, a highly significant relation with the fungus expression in all treatments was found; nevertheless, control treatment evidenced the high level of deterioration in the appearance, which makes it useless for an eventual commercialization after 72 hours of storage.

Induced resistance emerged as an important pathogen control alternative (Barbosa *et al.*, 2008), salicylic and ascorbic acids in low concentrations are presented as innocuous and safe composes to human health. Therefore, it would allow to replace or reduce the use of synthetic fungicides, which documented use is still questioned by its potential hazard for human health (Bortoli *et al.*, 2009).

Por otro lado, se encontró un efecto favorable de la aplicación foliar de los ácidos, sobre todo en el rendimiento por planta, los resultados mostraron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 2) destacando el uso de ácido salicílico a una concentración de 1.5  $\mu\text{M}$  con un peso promedio de fruto de 17.2 gr sin diferencias significativas con el tratamiento del mismo ácido a concentración 1  $\mu\text{M}$ .

El tratamiento de la mezcla de ácidos salicílico-ascórbico a pesar de mostrar una reducción en el daño por el patógeno, también mostró el rendimiento más bajo, incluso que del tratamiento testigo con 12.2 gr por fruto, sin embargo, no se encontraron diferencias con el ácido ascórbico en sus distintas concentraciones.

La humedad relativa máxima, fue de 100 % y la mínima de 17 %, además se encontró una relación altamente significativa con la expresión del hongo en todos los tratamientos, no obstante, en el tratamiento testigo, evidencio el elevado nivel de deterioro en su apariencia por lo que inhabilita para una eventual comercialización después 72 horas de almacenamiento.

La resistencia inducida surgió como una importante alternativa de control de patógenos (Barbosa *et al.*, 2008), los ácidos salicílico y ascórbico en bajas concentraciones se presentan como compuestos inocuos y seguros para la salud humana. De tal forma que esto permitiría reemplazar o

Results of the fungus expression due to environmental conditions and management of containers were similar to those mentioned by Fraire-Cordero *et al.*, (2003). It is important to mention that no systemic resistance was achieved, as it has been showed in other researches by the use of salicylic acid (Zhang *et al.*, 2010; Shafiee *et al.*, 2010; Banin *et al.*, 2016). However, in the mentioned works, different cultures of strawberry were used for assays, as well as pathogens, these appreciations conduct to suggest that there is a genetic component involved in the results, as time and level of protection (Benito *et al.*, 2012). In addition, González *et al.*, 2009, mentions that genetic diversity of strawberry (*Fragaria*) plants influence in the resistance to the pathogen fungus.

In preharvest, no expression of the fungus was expressed, since the environmental conditions were not favorable; however, during postharvest, the fungus expressed and developed, as what Benito *et al.*, 2000 mention, the pathogen can attack the culture in any stage of development and can infect any part of the plant. Joined to the sensibility to physical damage and rotting, accented by the temperatures that prevail during transportation, management and storage wait towards its commercialization or market during its sale (Alcántara *et al.*, 1995).

Despite not inhibiting the expression and development of the fungus, the evaluated treatments in their different concentrations retarded it, and improved the defense barriers to the pathogen. Although, the fungus was able to beat them, since its dissemination began in the surrounding vegetal tissue, determining the colonization and maceration of the infected tissue in a brief period of time (48 h), after, on the infected tissue, the pathogen produces a new generation of spores that can initiate a new cycle of infection (Benito *et al.*, 2000).

The postharvest infection was expressed when the relative humidity at the interior of the container was superior to 85 % factor same as temperature (Table 3), they have been widely documented factors, determining in the development of the infection in different cultures (Sirjusingh and Sutton, 1996; Ortiz *et al.*, 2011).

The increase of yield by the use of salicylic acid has been reported in several cultures where the increase in productivity of vegetable cultures such as cucumber,

reducir el empleo de fungicidas sintéticos, cuyo uso documentado se sigue cuestionando por su potencial peligrosidad para la salud humana (Bortoli *et al.*, 2009).

Los resultados de la expresión del hongo debido a las condiciones ambientales y manejo de los contenedores fueron similares a los mencionados por Fraire-Cordero *et al.*, (2003). Es importante recalcar que no se logró una resistencia sistémica, como se ha demostrado en otras investigaciones por el uso de ácido salicílico (Zhang *et al.*, 2010; Shafiee *et al.*, 2010; Banin *et al.*, 2016). Sin embargo, en los trabajos mencionados realizaron sus ensayos utilizando diferentes cultivares de fresa, así como patógenos, estas apreciaciones conducen a sugerir que hay un componente genético involucrado en los resultados, también como del tiempo y nivel de protección (Benito *et al.*, 2012), así mismo González *et al.*, 2009, menciona que la diversidad genética de las plantas de fresa *Fragaria* influyen en la resistencia al hongo patógeno.

En precosecha no se expresó el hongo ya que las condiciones ambientales no fueron favorables, sin embargo, durante la poscosecha el hongo se expresó y desarrolló **pues como** menciona Benito *et al.*, 2000, el patógeno puede atacar al cultivo en cualquier estado de desarrollo del mismo y puede infectar cualquier parte de la planta, aunado a la sensibilidad a daño físico y pudriciones que se acentúa por las temperaturas que prevalecen durante la espera para el transporte, manejo y almacenaje de la fruta, hacia su destino de comercialización o en el mercado durante su venta (Alcántara *et al.*, 1995).

A pesar de no inhibir la expresión y desarrollo del hongo, los tratamientos evaluados en sus diferentes concentraciones lo retardaron, y mejoraron las barreras defensivas ante el patógeno. No obstante, el hongo fue capaz de vencerlas pues inició su disseminación en el tejido vegetal circundante, determinando la colonización y la maceración del tejido infectado en un breve periodo de tiempo (48 h) posteriormente sobre el tejido infectado el patógeno produce una nueva generación de esporas que pueden iniciar un nuevo ciclo de infección (Benito *et al.*, 2000).

La infección poscosecha se expresó cuando la humedad relativa en el interior del contenedor fue superior al 85 % factor que al igual que la temperatura (Table 3) han sido ampliamente documentados como factores determinantes en el desarrollo de la infección en diferentes cultivos (Sirjusingh y Sutton, 1996; Ortiz *et al.*, 2011).

El aumento de rendimiento por el uso de ácido salicílico se ha reportado en diferentes cultivos en donde se menciona el in-



**Tabla 3.**  
**Correlación entre horas de almacenamiento, temperatura y humedad.**  
**Table 3.**  
**Correlation between storage hours, temperature and humidity.**

	72 hours	96 hours	Temperature inside the container	Humidity inside the container
48 hours	0.759	0.52	0.479	0.577
72 hours	1	.902*	.925**	.892*
96 hours		1	.966**	.967**
Temperature inside the container			1	.943**

\*\*The correlation is significant at the 0.01 level (bilateral).

\*The correlation is significant at the 0.05 level (bilateral).

\*\*La correlacion es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

\*La correlación es significante al nivel de 0.05 (bilateral). Máximo mínimo.

tomato, bell pepper and habanero chili has been mentioned (Larqué-Saavedra and Martín-Mex, 2007; Hayat et al., 2010; Martín et al., 2013). Nevertheless, the mix of salicylic with ascorbic acid made it decreased, probably by the effect of the pH and the concentration of salts, increasing the electric conductivity, results were under the average weight of control treatment.

## Conclusions

The investigation indicates that the foliar application of salicylic and ascorbic acid did not induce resistance to the pathogen *Botrytis cinerea*, nevertheless, results suggest that the salicylic acid at a 1.5  $\mu$ M could extend postharvest life of the strawberry by reducing the expression time of the pathogen, maintaining the quality and decreasing the use of pesticides; however, further studies to completely understand the mechanism by which acids can influence in the resistance induction to pathogens in the different varieties of strawberry *Fragaria* sp are necessary.

## Acknowledgements

Q.F.B. Concepción Carrión C., Coordinator of the research biotechnoenvironmental laboratory UPAEP.

cremento a la productividad de cultivos hortícolas tales como pepino, tomate, pimiento morrón y chile habanero (Larqué-Saavedra y Martín-Mex, 2007; Hayat et al., 2010; Martín et al., 2013). No obstante, la mezcla de ácido salicílico con ascórbico lo disminuyó **esto pudo ser por el efecto ocasionado del pH, y la concentración de sales aumentando la conductividad eléctrica, los resultados fueron por debajo del peso promedio del tratamiento testigo.**

## Conclusiones

La investigación indica que la aplicación foliar de los **ácidos salicílico y ascórbico no indujeron resistencia al patógeno *Botrytis cinerea***, no obstante los resultados sugieren que el ácido salicílico a una concentración 1.5  $\mu$ M podrían prolongar la vida poscosecha de la fresa al reducir el tiempo de expresión del patógeno, mantener la calidad y disminuir el daño así como aumentar el rendimiento, por lo que puede ser una forma útil de reducir el uso de plaguicidas, sin embargo, son necesarios más estudios para entender completamente el mecanismo por el cual los ácidos pueden influir en la inducción de resistencia a patógenos en las diferentes variedades de fresa *Fragaria* sp.

## Agradecimientos

Q.F.B. Concepción Carrión C., Coordinadora del laboratorio de investigación biotecnambiental UPAEP.

## References

- Afsaneh, Y.D., Morteza, S.A., Javad, R.F. and Hamid, H. 2013. Postharvest Salicylic Acid Treatment Enhances Antioxidant Potential Of Cornelian Cherry Fruit. *Scientia Horticulturae* 154: 31-36. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423813000617>
- Alcántara, G.M., Cabrera, S., Gracia, B., Martínez, S. and Ramírez, R. 1995. La calidad de la fresa en relación a su manejo en poscosecha. *Harvest and Postharvest Technologies for Fresh Fruits and Vegetables ASAE Michigan, Michigan, USA*. 198-205. <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:rx6qFaHn5rAJ:tiocrewmo.ru/joxuwatex.pdf+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=mx>
- Alvarado, H.A., Barrera, N.L., Hernández, L.A., and Velázquez del Valle, M. 2011. Actividad antifúngica del quitosano y aceites esenciales sobre *Rhizopus stolonifer*. *Colomb Biotechnol* 8: 127-134. <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v13n2/v13n2a11.pdf>
- Averre, W.C., Jones, K.R. and Millholland, R.D. 2003. Strawberry diseases and their control. *Fruit disease information*. Note 5. Plant pathology extension. North Carolina State University, Raleigh, NC. <http://www.ces.ncsu.edu/depts/pp/notes/oldnotes/fd5.htm>
- Ayala, M., Almanza-Merchan, P.J. and Serrano-Cely, P.A. 2014. Efecto de Pyraclostrobin+Epoxiconazole en la producción de fresa (*Fragaria* sp.). *Ciencia y agricultura* 11(1): 35-45. [http://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencia\\_agricultura/article/view/3486/3106](http://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencia_agricultura/article/view/3486/3106)
- Banin, O.S., Mahmoud, K.S. and Aryou, E. 2016. *Aloe vera* and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology* 114: 29-35. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521415301812>
- Barbosa, M., Aranjera, D., Coelho, R. and Sartori, B.C. 2008. Custo fisiológico da resistência em algodoeiro sob diferentes níveis de nitrogênio. *Summa Phytopathologica* 34: 338-342. <http://www.scielo.br/pdf/sp/v34n4/v34n4a07.pdf>
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 2006. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Fourth edition. Burgess publishing company. New York, USA. 241p. <http://www.apsnet.org/apsstore/shopapspress/pages/41922.aspx>
- Batta, Y., 2004. Postharvest biological control of apple gray mold by *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in an invert emulsion. *Crop Protection* 23(1): 19-26. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219403001637>
- Beltrán, A., Ramos, M. and Álvarez, M. 2010. Estudio de la Vida Útil de Fresas (*Fragaria vesca*) Mediante Tratamiento con Radiación Ultravioleta de Onda Corta (UV-C). *Revista Tecnológica ESPOL* 23(2): 17-24. <http://www.rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/51/22>
- Benito, E., Arranz, M. and Eslava, A. 2000. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. *Iberoamericana Micol* 17: 43-46. <http://www.reviberoammicol.com/2000-17/S43S46.pdf>
- Bortoli, G., Barbieri de Azevedo, M. and Basso da Silva, L. 2009. Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. *Mutation Research* 675: 1-4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19386239>
- Chaves, N. and Wang, A., 2004. Combate del moho gris (*Botrytis cinerea*) de la fresa mediante *Gliocladium roseum*. *Agronomía costarricense* 28: 73-85. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43628207>
- Crous, P.W., Verkley, G.J., Groenewald, J.Z. and Samson, R.A. 2009. *Fungal Biodiversity*. CBS Laboratory Manual Series 1:1-269. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands. <http://www.cbs.knaw.nl/BioloMICS-News.aspx?Rec=5666>
- EEA. Air quality in Europe. Report. European Environment Agency, 2013. En <http://www.eea.europa.eu/publications/air-quality-in-europe-2013>, última consulta: 21 de julio de 2016.
- Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, United Kingdom. 608p. <https://www.abebooks.co.uk/book-search/title/dematiaceous-hyphomycetes/author/ellis-m-b/>
- Fan, Y., Xu, Y., Wang, D., Zhang, L., Sun, J., Sun, L. *et al.* 2009. Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (*Fragaria x ananassa*) preservation quality. *Postharvest Biology and Technology* 53: 84-90. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092552140900060X>
- Fraire-Cordero, M., Yáñez-Morales, M., Nieto-Ángel, D. and Vázquez, G. 2003. Hongos Patógenos en Fruto de Fresas (*Fragaria x ananassa* Duch.) en Poscosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21(3): 285-291. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221307>

- Gómez, D. and Reis, E. 2011. Inductores abióticos de resistencia contra fitopatógenos. *Revista Química Viva* 10(1): 6-17. <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v10n1/gomez.html>
- González, G., Moya, M., Sandoval, C. and Herrera, R. 2009. Genetic diversity in Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis*): differential response to *Botrytis cinerea* infection. *Spanish Journal of Agricultural Research* 7(4): 886-895. <http://revistas.inia.es/index.php/sjar/article/view/1102>
- Guédez, C., Cañizález, L., Castillo, C. and Olivar, R. 2009. Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos poscosecha de la fresa (*Fragaria* spp). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 29: 34-38. [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562009000100007](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562009000100007)
- Gutierrez-Coronado, I., Trejo-López, C. and Larqué-Saavedra, A. 1998. Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiology and biochemistry* 36(8): 563-565. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S098194289880003X>
- Hayat, Q., Irfan, M., Hayat, S. and Ahmad, A. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environ and experimental botany* 68: 14-25. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847209001579>
- Hongyin, A., Longchuan, M., Turner, M., Huaxi, C., Xiaodong, D., Ying, A. et al. 2010. Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of *Rhodotorula glutinis* against postharvest *Rhizopus* rot of strawberries and the possible mechanisms involved. *Food Chemistry* 122(3): 577-583. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610002736>
- Larqué-Saavedra, A. and Martín-Mex, R. 2007. Effect of salicylic acid on the bioproductivity of plants. In: *Salicylic acid: A Plant Hormone* 15-24. [http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F1-4020-5184-0\\_2](http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F1-4020-5184-0_2)
- López, A., Vélez, M., Sánchez, M., Bonilla, C. and Gallo, P. 2006. Evaluación de extractos vegetales para el manejo de hongos patógenos en banana y fresa almacenados. *Acta agronómica* 55: 39-44. <http://www.bdigital.unal.edu.co/13122/2/478-3043-1-PB.pdf>
- Martín-Mex, R., Nexcitapan-Garcéz, A. and Larqué-Saavedra, A. 2013. Potential benefits of salicylic acid in food production. In: *Salicylic acid. Springer publishers* 299-313. [http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-94-007-6428-6\\_13](http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-94-007-6428-6_13)
- Mekbib, S., Regnier, T. and Korsten, L. 2011. Efficacy and mode of action of yeast antagonists for control of *Penicillium digitatum* in oranges. *Plant Pathol* 36(4): 233-240. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1982-56762011000400004](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762011000400004)
- Mesbah, B., Asghari, M., Talaei, A. and Khosroshahi, A. 2007. Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. *Food Chemistry* 105: 449-553. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607002488>
- Santos, M., Diánez, F., Cara, M.D., Camacho, F. and Tello, J.C. 2010. El control biológico de plagas y enfermedades. Un encuadre crítico. *Cuadernos de estudios agroalimentarios* 1: 61-72. <http://www.publicacionescajamar.es/pdf/publicaciones-periodicas/cuadernos-de-estudios-agroalimentarios-cea/1/1-544.pdf>
- Muñoz, B.L., E. Botta, E. Pérez, A. Ballester, D. Moreno, F. Rodríguez, E. and Fernández, R. 2007. Sistemas de manejo integrado de plagas como alternativa al uso del bromuro de metilo en la producción de cultivos protegidos, flores y ornamentales, *Boletín Fitosanitario* 12(1):1-71, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Cuba. [http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-mip\\_y\\_elimacin\\_del\\_bromuro\\_de\\_metilo\\_en\\_cuba.pdf](http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-mip_y_elimacin_del_bromuro_de_metilo_en_cuba.pdf)
- Ortiz-Catón, M., Alatorre-Rosas, R., Valdivia-Bernal, R., Ortiz-Catón, A., Medina-Torres, R. and Alejo-Santiago, G. 2011. Efecto de la temperatura y humedad relativa sobre el desarrollo de los hongos entomopatógenos. *Revista Biociencias* 1: 42-53. <http://biociencias.uan.edu.mx/publicaciones/01-02/biociencias2-4.pdf>
- Plascencia, R.I. 2011. Bacterias antagonicasaisladas de fresa, como controladoras de *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* en frutos de fresa poscosecha. (Tesis maestría): Instituto Politécnico Nacional. <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/11117>
- Quezada, A.P. 2012. Evaluación del comportamiento de fungicidas microbiológicos en la prevención de *botrytis* en el cultivo de fresa (*Fragaria Vesca*). *Gestión de la Producción de Flores y Frutas Andinas para Exportación*. (Tesis maestría): Universidad técnica de Ambato. <http://repo.uta.edu.ec/handle/123456789/1680>
- Restrepo, J.I. and Aristizábal, I.D. 2010. Conservación de fresa (fragaria x ananassa duch cv. camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*aloe barbadensis* miller) y cera de

- carnauba 17(3): 252-263. <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169815641003.pdf>
- Ruiz, R. and Piedrahita, W. 2012. Fresa (*Fragaria* spp.). En: Almanza-Merchán, P. J., Álvarez, J. G., Aranda, Y., Benavides, M. A., Bonnet, J. B., Campos, T., et al, eds. Manual para el cultivo de frutales en el trópico: *Produmedios* 474-496. [https://www.researchgate.net/profile/Gerhard\\_Fischer/publication/257972716\\_Introduccion\\_Manual\\_para\\_el\\_cultivo\\_de\\_frutales\\_en\\_el\\_tropico/links/5794cee608aec89db7a2ca5f/Introduccion-Manual-para-el-cultivo-de-frutales-en-el-tropico.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Gerhard_Fischer/publication/257972716_Introduccion_Manual_para_el_cultivo_de_frutales_en_el_tropico/links/5794cee608aec89db7a2ca5f/Introduccion-Manual-para-el-cultivo-de-frutales-en-el-tropico.pdf)
- Russel, P. 2004. Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management. Third Edition. United Kingdom, 50 pp. [http://download.bioon.com.cn/upload/month\\_0811/20081127\\_05c186e87fea3d4fa353APo7Fok8Ftfe.at-tach.pdf](http://download.bioon.com.cn/upload/month_0811/20081127_05c186e87fea3d4fa353APo7Fok8Ftfe.at-tach.pdf)
- SAGARPA. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. 2008. En: [http://www.siap.gob.mx/?option=com\\_wrapper](http://www.siap.gob.mx/?option=com_wrapper) Última consulta: julio de 2016
- Sanz, C., Pérez, A.G., Ollas, R. and Ollas J.M. 1999 Quality of strawberries packed with perforated polypropylene. *Journal Food Science* 64: 748-752. <http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/Journal%20of%20food%20science/1999%20v.64/no.4/jfsv64n4p748-752ms4428%5B1%5D.pdf>
- Shafiee, M., Taghavi, T., and Babalar, M. 2010. Addition of salicylic acid to nutrient solution combined with postharvest treatments (hot water, salicylic acid, and calcium dipping) improved postharvest fruit quality of strawberry. *Scientia Horticulturae* 124: 40-45. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423809005214>
- Sirjusingh, C., and Sutton, J.C. 1996. Effects of wetness duration and temperature on infection of geranium by *Botrytis cinerea*. *Plant Diseases* 80: 160-165. [http://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1996Articles/PlantDisease80n02\\_160.PDF](http://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1996Articles/PlantDisease80n02_160.PDF)
- Steiner, A. 1961. A universal Method for Preparing Nutrient Solutions of a Certain Desired Composition. *Plant Soil* 15(2): 134-154. <http://link.springer.com/article/10.1007/BF01347224>
- Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A., and González-Martínez, M. 2006. Quality of cold stored strawberries as affected by chitosan oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology* 41: 164-171. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521406001074>
- Zhang, H., Ma, L., Turner, M., Xu, H., Zheng, X., Dong, Y., et al. 2010. Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of *Rhizotorula glutinis* against postharvest *Rhizopus* rot of strawberries and the possible mechanisms involved. *Food Chemistry* 122: 577-583. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610002736>
- Zong, Y., Liu, J., Li, B., Qin, G., and Tian, S. 2010. Effects of yeast antagonists in combination with hot water treatment on postharvest diseases of tomato fruit. *Biological Control* 54: 316-321. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964410001258>

**Cite this paper/Como citar este artículo:** Ortega Martínez, L.D., Ocampo Mendoza, J., Zarate Rivas, F., Olvera Salinas, C., Rojas Reyes, F., Salazar Magallón, J. and Pérez Armendáriz, B. (2017). Inducers of resistance to *Botrytis cinerea* in postharvest strawberry fruits. *Revista Bio Ciencias* 4(5), 12 pages, Article ID: 04.05.05. <http://editorial.uan.edu.mx/BIOCIENCIAS/article/view/281/314>

