

# CAPÍTULO 1.

## SENSIBILIDAD DE *Botrytis cinerea* A SIETE FUNGICIDAS COMÚNMENTE EMPLEADOS PARA SU CONTROL EN CULTIVOS DE MORA

Liz Alejandra Uribe Gutiérrez, Jimmy Alexander Zapata Narváez y  
Alba Marina Cotes Prado

### Resumen

El principal método de control de *Botrytis cinerea* se basa en el uso de fungicidas de síntesis química. Sin embargo, el rápido desarrollo de resistencia por parte del patógeno hacia la mayoría de fungicidas empleados para su control, debido a su alta variabilidad genética, ha vuelto ineficiente su manejo. Para evaluar la sensibilidad de diferentes aislamientos de *B. cinerea* frente a siete fungicidas comúnmente empleados para el control de este patógeno en cultivos de mora, se determinó *in vitro* el porcentaje de inhibición del crecimiento diametral para 25 morfotipos, el porcentaje de inhibición de la germinación para 24 morfotipos y la incidencia sobre discos de hojas de mora de 11 morfotipos, así como la resistencia tomada de ensayos desarrollados en cultivos comerciales. Todos los aislamientos presentaron diferente sensibilidad frente a los fungicidas evaluados. El 12,5% de los conidios fueron sensibles a Benomil y el 8,3% a Carbendazim, en tanto que el 100% fue sensible a Difenconazole, Procloraz, Mancozeb, Captán e Iprodión, al no evidenciarse germinación. Al evaluar el crecimiento diametral, el 16% de los aislamientos fueron sensibles a Benomil y Carbendazim, el 21% a Captán, el 72% a Iprodión, el 36% a Mancozeb y el 100% a Difenconazol y Procloraz, al inhibir totalmente el crecimiento. Al evaluar la sensibilidad sobre discos de hojas se presentó mayor incidencia en los discos tratados con Benomil, Carbendazim y Mancozeb, y una menor o ninguna incidencia en los discos tratados con Difenconazole y Procloraz.

## Introducción

El control de *Botrytis cinerea* se realiza principalmente mediante aplicaciones de agentes químicos (Benito *et al.*, 2000; Mikani *et al.*, 2007), sin embargo, la utilización de fungicidas es cada vez más restringida debido a problemas asociados con la contaminación ambiental que derivan de su aplicación y al rápido desarrollo de resistencia hacia los fungicidas utilizados para su control (Benito *et al.*, 2000; Hayashi *et al.*, 2002). Por estas razones, el control químico de *B. cinerea* es difícil y las estrategias de manejo para retrasar la aparición de resistencia en el patógeno son importantes.

Actualmente, a nivel mundial se encuentran en el mercado varios grupos de fungicidas para el control de *B. cinerea*, los cuales se clasifican según su modo de acción en cinco categorías: 1) Los que afectan la respiración fúngica. 2) Los antimicrotubulares que afectan la mitosis y la división celular. 3) Los que afectan la osmorregulación, pues inhiben la síntesis de lípidos y membranas. 4) Los que afectan la síntesis de aminoácidos y de proteínas, y 5) Los inhibidores de la biosíntesis de esterol en las membranas. Para todos estos, las dosis de aplicación recomendadas para cada grupo varían de 400-500g/Ha a 2000-3000g/Ha, según las recomendaciones de la casa comercial (Elad *et al.*, 2004).

Para el control de la pudrición del fruto de mora en Colombia no se encuentra registrado ningún producto. Sin embargo, se realizan aplicaciones de Captan, Benomil, Mancozeb, Carbendazim, Iprodión, Difenconazole y Procloraz, entre otros, siendo estos siete fungicidas los más utilizados para el control del moho gris en este cultivo en Cundinamarca y Antioquia, dos de los principales departamentos productores de mora a nivel nacional.

Actualmente, en estas regiones no se ha registrado resistencia del patógeno frente a estos fungicidas, por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar bajo condiciones controladas (*in vitro* e *in planta*) la sensibilidad de diferentes aislamientos de *B. cinerea* provenientes de estas dos regiones, expuestos a los principios activos ya mencionados.

## Metodología

### *Aislamiento de morfotipos de B. cinerea en cultivos comerciales*

Con el objetivo de establecer una colección de aislamientos de *B. cinerea* para desarrollar bioensayos tendientes a determinar la sensibilidad de este patógeno a los diferentes fungicidas utilizados para su control, se realizaron

colectas de frutos de mora que presentaban signos y síntomas de moho gris, en cultivos comerciales de los municipios de La Ceja (Antioquia) y Silvania (Cundinamarca).

El aislamiento del patógeno se realizó en cajas Petri con agar papa dextrosa (PDA), suplementado con ácido tánico al 0,5%, incubadas a 23°C durante seis días, bajo condiciones de oscuridad. Las colonias de *B. cinerea* fueron identificadas por la formación de un halo marrón, debido a la degradación del ácido tánico por la enzima lacasa producida por el patógeno. Todos los aislamientos se mantuvieron en PDA y se almacenaron a 18°C durante 10 días (Kerssies, 1990).

### *Sensibilidad in vitro de B. cinerea a fungicidas utilizados para su control en el cultivo de mora*

Los principios activos evaluados corresponden a los fungicidas que presentan mayor frecuencia de uso para el control del moho gris en los municipios de La Ceja y Silvania (Tabla 1).

Los ensayos se realizaron en PDA suplementado con cada uno de los fungicidas en la dosis recomendada; teniendo en cuenta su solubilidad, los solventes empleados fueron: agua destilada para Mancozeb y Carbendazim, y acetona para Benomil, Difenoconazol, Procloraz, Captan e Iprodión (Jiang *et al.*, 2009). Las cajas correspondientes a los fungicidas solubilizados en acetona se dejaron abiertas durante 15 minutos en una cabina de flujo laminar, para facilitar la evaporación del solvente.

Se determinó el efecto de los fungicidas sobre la germinación de los conidios para 24 aislamientos de *B. cinerea* seleccionados, por presentar abundante esporulación. Para cada aislamiento, a partir de cultivos en PDA de 15 días de edad, se colectaron los conidios y se realizó una suspensión a una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios.mL<sup>-1</sup>, posteriormente se sembraron de cada una 100µL en el medio, con y sin adición de fungicida (control). Las cajas se incubaron durante 72 horas a 23°C y cada 24 horas se realizaron lecturas correspondientes al número de conidios germinados y no germinados. El porcentaje de germinación se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Germinación (\%)} = \left( \frac{\text{Conidios germinados}}{\text{Total conidios}} \right) \times 100$$

**Tabla 1.** Ingrediente activo y dosis empleada en la evaluación de la sensibilidad

Ingrediente activo y categoría toxicológica	Producto	Dosis ppm*	Grupo químico	Modo de acción
Carbendazim IV	Derosal	600	Benzimidazoles	Proceso de división celular (mitosis).
Mancozeb IV	Mancozeb	2000	Ditiocarbamatos	Multisitio.
Difenoconazol III	Score	625	Triazoles	Inhibe la biosíntesis de Ergosterol.
Benomil IV	Benlate	750	Benzimidazoles	Proceso de división celular.
Procloraz II	Sportak	246	Imidiazol	Inhibe la biosíntesis de Ergosterol.
Iprodión III	Rovral	1500	Dicarbóximidás	Inhibe la germinación de las esporas y el desarrollo de micelio.
Captan IV	Captan	750	Ftalimidás	Reacciona con las enzimas sulfhídricas con producción de Tiofosgeno e interfiere en el proceso de respiración celular.

\* Corresponde a la dosis más alta recomendada en la etiqueta del producto comercial.

Por otra parte, se determinó el efecto de cada fungicida sobre el crecimiento micelial de 25 aislamientos seleccionados por presentar mayor crecimiento. Se cortaron discos de agar de 5,3 mm de diámetro, obtenidos de cultivos esporulados de 10 días de edad. Cada disco se colocó en el centro de una caja Petri con PDA, con y sin adición de fungicida (control). Las cajas se incubaron a 23°C durante 15 días y cada tercer día se midió el crecimiento diametral (dos diámetros perpendiculares que fueron promediados), con la ayuda de un micrómetro digital. El porcentaje de inhibición del crecimiento se determinó mediante la siguiente fórmula: donde, % IM: Porcentaje de inhibición crecimiento micelial; CML: Crecimiento diametral de la colonia en el testigo; CM: Diámetro inicial del inóculo (disco con micelio) y CMF: Crecimiento diametral de la colonia expuesta al fungicida.

$$IM (\%) = \left( \frac{(CM - CM) - (CMF - CM)}{(CML - CM)} \right) \times 100$$

Los resultados obtenidos para el crecimiento diametral fueron sometidos a un análisis de varianza (Anova). Las diferencias que presentaron valores de  $p < 0,05$  fueron consideradas significativas y se les realizó una comparación de medias por Tukey. Todos los ensayos se realizaron mediante un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones. La unidad experimental consistió en una caja Petri.

## *Sensibilidad in planta de B. cinerea a fungicidas utilizados para su control en el cultivo de mora*

Se evaluó la sensibilidad *in planta* para 11 aislamientos de *B. cinerea* previamente seleccionados por presentar mayor esporulación en PDA.

Los folíolos se colectaron en un cultivo comercial ubicado en la vereda Monterrico, del municipio de Silvania. Este material fue previamente desinfestado, sumergiendo las hojas en una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto, seguido de dos lavados con agua estéril. Posteriormente se sumergieron en una solución de glifosato (dosis recomendada), seguido de dos lavados sucesivos con agua estéril, para así promover la muerte del tejido y facilitar la infección del patógeno. Finalmente, los folíolos se secaron en una cabina de flujo laminar y se cortaron discos de 1,7 cm de diámetro, con la ayuda de un sacabocados estéril. Los discos se sumergieron durante 30 minutos en las soluciones de fungicidas ajustadas a la dosis recomendada (Tabla 1) y se dejaron secar dentro de una cabina de flujo laminar. Posteriormente se ubicaron tres discos por tratamiento dentro de una cámara húmeda y se inocularon con una gota de 10 $\mu$ L ajustada a una concentración de 1x10<sup>4</sup> conidios.mL<sup>-1</sup> de cada aislamiento. Las cámaras húmedas se llevaron a incubación durante 10 días a 23°C. Transcurrido este tiempo, se evaluó la incidencia de la enfermedad, mediante la observación de la esporulación sobre cada uno de los discos inoculados. Los experimentos se realizaron mediante un diseño experimental completamente al azar, con tres repeticiones. La unidad experimental consistió en una cámara húmeda con tres discos.

## *Sensibilidad en campo de B. cinerea a fungicidas utilizados para su control en el cultivo de mora en los municipios de La Ceja y Silvania*

Estos bioensayos se desarrollaron entre los meses de junio y julio de 2009, durante la estación de lluvias (época de mayor incidencia de moho gris), en los cultivos de mora que fueron seleccionados para colectar muestras de material vegetal para el aislamiento de *B. cinerea* en los municipios de La Ceja y Silvania.

La evaluación de la resistencia de *B. cinerea* en campo se realizó mediante la exposición de cajas Petri con agar BSM (medio de cultivo selectivo para *Botrytis* spp.) (Edwards y Seddon, 2001), preparado con las dosis completa y media de cada uno de los fungicidas.

En cada cultivo se seleccionaron, por surcos, plantas en las cuales se dejaron expuestas (en los diferentes estratos de la planta) las cajas Petri por un periodo de dos horas (Figura 1). De igual forma, también se dejaron algunas cajas sobre el material de poda que comúnmente no es retirado del cultivo. La evaluación se realizó por triplicado y se contó con un testigo que consistió en cajas Petri con medio BSM sin fungicida.



**Figura 1.** Ubicación de las cajas Petri en las plantas de mora, para evaluar la sensibilidad de *B. cinerea* a siete fungicidas utilizados para su control en cultivos comerciales.

Una vez en el laboratorio, las cajas Petri se incubaron a 22°C, en completa oscuridad, durante 8 días; posteriormente se realizó el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC) de *B. cinerea*, teniendo en cuenta las características macroscópicas de las colonias obtenidas (para diferenciarlas de otros hongos que se desarrollaron en los medios), que para el caso de *B. cinerea* se caracterizan por presentar colonias esparcidas, inicialmente blancas, que con el tiempo se tornan grises polvosas, micelio inmerso o superficial, así como la formación de esclerocios de color oscuro y de tamaño medio (Pardo, 1995; Ellis *et al.*, 1991).

De igual forma, debido al ácido tánico presente en el medio (un compuesto de glucosa y ácidos fenólicos cuya fórmula es  $C_{76}H_{52}O_{46}$ ), éste se torna oscuro alrededor de las colonias de *B. cinerea*, debido a la degradación del ácido por la enzima lacasa producida por el patógeno (Keressies, 1990). Para cada uno de los tratamientos se promedió el número de UFC obtenidas por caja Petri.

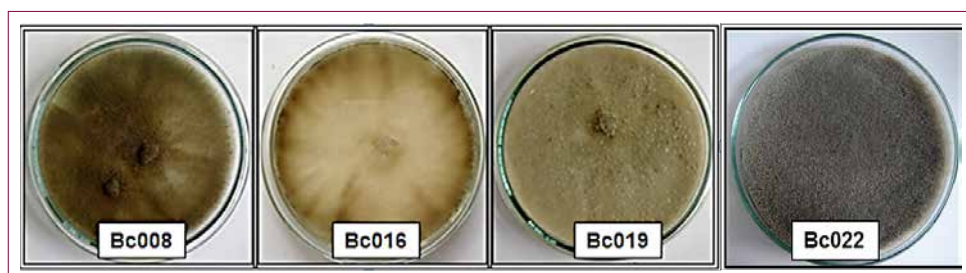
## Resultados

### *Aislamiento de morfotipos de Botrytis cinerea en cultivos comerciales*

Se estableció una colección de 40 aislamientos de *B. cinerea*, 20 procedentes del municipio de Silvania y 20 del municipio de La Ceja. Todos los aislamientos

fueron crioconservados a  $-70^{\circ}\text{C}$ , siguiendo el procedimiento operativo estándar (IN-R-251) del Banco de Germoplasma de Microorganismos con Interés en Control Biológico, de Corpoica.

Los aislamientos de *B. cinerea* presentaron diferencias en su crecimiento en el medio de cultivo. Los que provenían de La Ceja se caracterizaron por un pobre desarrollo de micelio, así como poca producción de conidios; en tanto que los aislados a partir de las muestras colectadas en Sylvania presentaron un abundante y rápido crecimiento del micelio y producción de conidios (Figura 2). Esto puede atribuirse a la diferencia en la humedad relativa y temperatura entre las dos zonas donde se realizaron los muestreos, siendo Sylvania la que presentó mayor humedad relativa ( $>92\%$ ) y una menor temperatura ( $15^{\circ}\text{C}$ ). Rotem y colaboradores (1978) (Citado por Elad *et al.*, 2004) encontraron que fluctuaciones en la humedad relativa y en la temperatura influían en el desarrollo y producción de los conidios de *B. cinerea*.

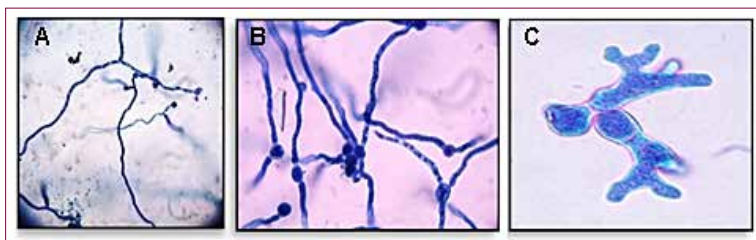


**Figura 2.** Aislamientos de *B. cinerea* provenientes de La Ceja (Bc016) y Sylvania (Bc008, Bc019 y Bc022).

### *Sensibilidad in vitro de B. cinerea a fungicidas utilizados para su control en el cultivo de mora*

Para todos los aislamientos en el tratamiento control, los conidios presentaron una germinación superior al 95% después de 24 horas de incubación (Figura 3A).

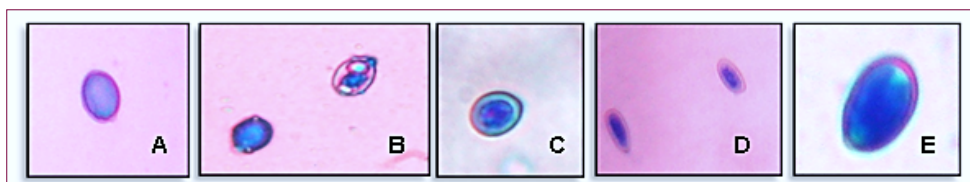
Al exponer los conidios a Benomil, el 83% de los aislamientos mostró baja sensibilidad, ya que se obtuvo un porcentaje de germinación superior al 95% después de 24 horas de incubación, similar al obtenido en el control. Sin embargo, con este fungicida se observó la reducción del tubo germinal, lo que pudo deberse a su modo de acción, ya que interfiere en funciones celulares como la división celular y el transporte intracelular (RAP-AL, 2008) (Figura 3C), mientras que el 17% de los aislamientos presentó alta sensibilidad, ya que los conidios no germinaron después del periodo de incubación.



**Figura 3.** Observación microscópica (objetivo 40X) de la germinación de los conidios en diferentes tratamientos: A. Control, aislamiento BcS001. B. Aislamiento BcS004 en el tratamiento con Carbendazim. C. Aislamiento BcS003 en el tratamiento con Benomil.

En el medio con Carbendazim, el 79% de los aislamientos no presentó sensibilidad, pues sus conidios mostraron un porcentaje de germinación superior al 95% después de 24 horas de incubación (Figura 3B). Por otro lado, el 13% de los aislamientos mostró sensibilidad media, expresada como el retraso en la germinación (95% después de 48 horas), en tanto que el 8% de los aislamientos fue sensible, si se tiene en cuenta que sus conidios no germinaron.

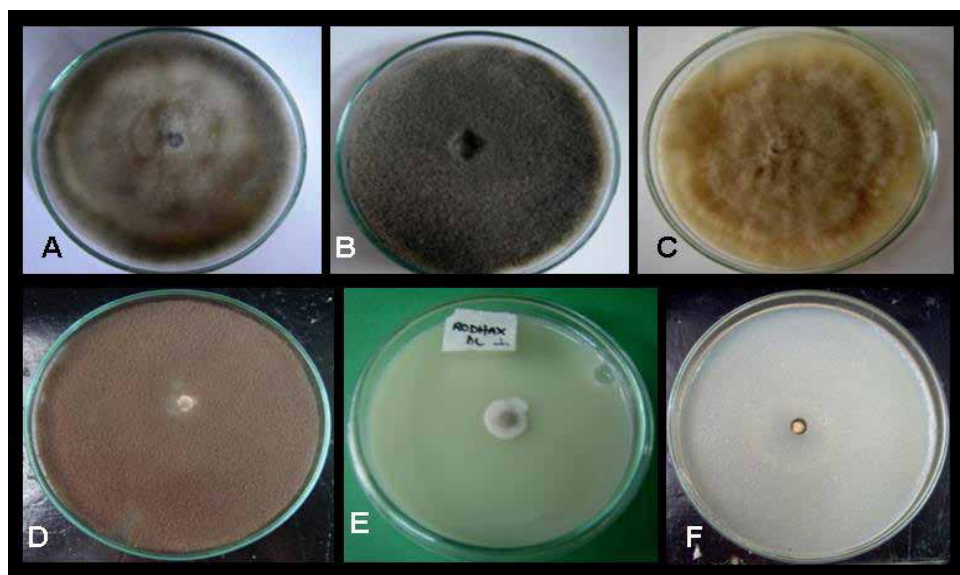
Por otra parte, todos los aislamientos fueron sensibles a Difenoconazol, Procloraz, Mancozeb, Captan e Iprodión, dado que no se presentó germinación de los conidios (Figura 4).



**Figura 4.** Observación microscópica (40X) de la germinación de los conidios. A. Aislamiento Bc008 expuesto a Difenoconazol. B. Aislamiento Bc011 expuesto a Procloraz. C. Aislamiento Bc011 expuesto a Iprodión. D. Aislamiento Bc008 expuesto a Mancozeb. E. Aislamiento Bc008 expuesto a Captan.

Respecto al crecimiento diametral, todos los aislamientos en el tratamiento de control presentaron un crecimiento de 90 mm y abundante esporulación (Figura 5A, B y C).

Al exponer los aislamientos a Benomil, el 72% no presentó sensibilidad, ya que su crecimiento fue similar al control; el 12% presentó baja sensibilidad y el 16% mostró alta sensibilidad. Por otra parte, al exponer los aislamientos al medio con Iprodión, el 16% y el 84% presentaron media y alta sensibilidad, respectivamente (Tabla 2). Para Carbendazim, el 36% de



**Figura 5.** Crecimiento diametral de los controles: A. Bc019. B. Bc008. C. Bc043. D. Crecimiento diametral del aislamiento Bc008 en Carbendazim. E. Mancozeb. F. Difenconazol.

**Tabla 2.** Porcentaje de aislamientos clasificados según su sensibilidad a los fungicidas evaluados

Sensibilidad	(%) Inhibición	Carbendazim	Mancozeb	Difenconazol	Benomil	Procloraz	Iprodión	Captan
Nula	0	36	20	0	72	0	0	0
Baja	1 - 40	48	36	0	12	0	0	0
Media	41 - 80	0	4	0	0	0	16	26
Alta	81 - 100	16	40	100	16	100	84	74

los aislamientos no fue sensible, el 48% presentó baja sensibilidad y el 16% fue sensible al inhibir completamente su crecimiento (Tabla 2 y Figura 5D).

En el medio con Mancozeb, el 20% de los aislamientos no mostró sensibilidad, pues su crecimiento no fue inhibido, el 36% presentó baja sensibilidad; el 4%, sensibilidad media, y el 40%, sensibilidad alta (Tabla 2 y Figura 5E).

Al exponer los aislamientos a Captan, el 26% presentó sensibilidad media, en tanto que el 74% fue altamente sensible (Tabla 2). Por otra parte, todos los aislamientos fueron sensibles a Difenconazol y Procloraz, al inhibir completamente el crecimiento (Figura 5F).

La germinación de los conidios y la elongación del tubo germinal no se vio afectada en los medios con fungicidas pertenecientes al grupo químico de los benzimidazoles como Carbendazim (Figura 3B), en tanto que en presencia de Benomil se evidenció la germinación de los conidios, pero una notoria inhibición del tubo germinal (Figura 3C).

Es importante resaltar que la baja sensibilidad presentada por la mayoría de los aislamientos frente a Carbendazim y Benomil, puede atribuirse a su uso recurrente y a la ausencia de esquemas de rotación por parte de los productores de mora.

Por otro lado, la germinación de los conidios para todos los aislamientos fue inhibida en algún grado por Mancozeb, Iprodión, Difenconazole, Procloraz y Captán, siendo Iprodión la única molécula que actúa directamente sobre la germinación, en tanto que las demás están dirigidas a impedir el desarrollo subcuticular del micelio e inhibir la síntesis de Ergosterol.

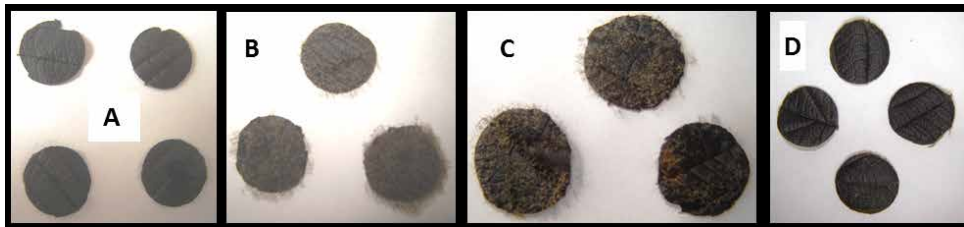
En cuanto al crecimiento diametral, los aislamientos presentaron baja sensibilidad a los fungicidas pertenecientes a los grupos químicos de los benzimidazoles y ditiocarbamatos. Es importante resaltar que el modo de acción de estos tres fungicidas es similar, actúan interfiriendo en la síntesis del ADN, la mitosis y en el proceso de transcripción (De Liñán, 1997). La baja sensibilidad que presentan los aislamientos frente a estas moléculas puede ser resultado de un fenómeno de resistencia negativa y cruzada, al presentar el mismo modo de acción. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Latorre y colaboradores (2002) para aislamientos resistentes de *B. cinerea*, demostrando que el uso frecuente de una molécula similar a las empleadas en otros fungicidas puede generar resistencia negativa y cruzada hacia las otras moléculas, aun sin haberlas usado, como ocurrió con los grupos anilino piridinas, mepanipirinas y pirimetanil.

En este estudio, los aislamientos presentaron una sensibilidad media frente a las moléculas que pertenecen a los grupos químicos de las ftalimidias y dicarboximidias, en tanto que fueron sensibles a los triazoles e imidazoles.

### *Sensibilidad in planta de B. cinerea a fungicidas utilizados para su control en el cultivo de mora*

Al evaluar la incidencia de los aislamientos sobre los discos de foliolos tratados con los fungicidas, se obtuvo que para Benomil, el 27% de los aislamientos presentó baja sensibilidad; el 64%, sensibilidad media, y el 9%, alta sensibilidad;

con Carbendazim, el 9% de los aislamientos no fue sensible, el 64% presentó baja sensibilidad y el 27%, sensibilidad media; con Mancozeb, el 18% no fue sensible, el 64% presentó baja sensibilidad y el 18%, sensibilidad media. Por otro lado, todos los aislamientos fueron sensibles a Difenconazol, Procloraz, Captan e Iprodión, pues no se evidenció crecimiento ni esporulación sobre los discos de hoja tratados con estos (Figura 6).



**Figura 6.** A. Testigo absoluto. B. Testigo patógeno. C. Incidencia de *B. cinerea* sobre discos tratados con Carbendazim. D. Incidencia de *B. cinerea* sobre discos tratados con difenoconazole.

Teniendo en cuenta el comportamiento de cada aislamiento, de los 11 evaluados, se encontró que los aislamientos Bc008 y Bc027 presentaron la mayor incidencia en los discos tratados con Benomil, con 78% y 89%, respectivamente. Al comparar estos resultados con los obtenidos en la evaluación de la inhibición del crecimiento diametral y la germinación de los conidios, los dos aislamientos mostraron tolerancia frente a este fungicida, ya que presentaron un crecimiento diametral similar al obtenido en el control (90 mm) y un porcentaje de germinación superior al 95%, después de 24 horas de incubación. Sin embargo, aunque el aislamiento Bc027 mostró un retraso en la germinación con un porcentaje superior al 95%, después de 72 horas, fue el aislamiento que presentó la mayor incidencia sobre los discos.

El aislamiento Bc024 presentó la mayor incidencia del moho gris sobre los discos tratados con Carbendazim, con un 78%, seguido de los aislamientos Bc022 y Bc023 con un 56%. El aislamiento Bc024, de igual forma, presentó menor inhibición del crecimiento diametral y una germinación superior al 95%, después de 24 horas.

La mayor incidencia del moho gris sobre los discos tratados con Mancozeb fue para los aislamientos Bc012 y Bc019 con un 44% y Bc008, Bc014 y Bc017 con un 33%.

Es importante tener en cuenta que los principios activos evaluados corresponden a los fungicidas que actualmente usan los productores

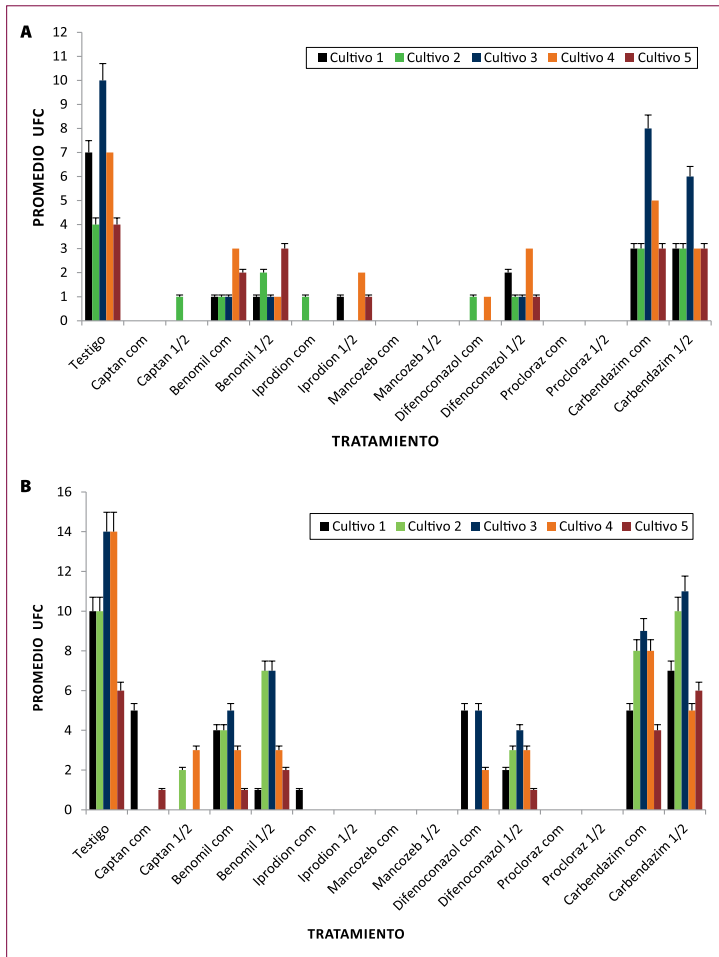
de mora para el control de *B. cinerea* en sus cultivos, en los municipios de Silvania y La Ceja; por lo tanto, los resultados obtenidos mostraron que los aislamientos, independientemente de su origen, fueron principalmente sensibles a Difenconazol y a Procloraz, posiblemente debido a su corto tiempo de uso; en tanto que mostraron tolerancia a Carbendazim, Benomil y Mancozeb, por ser los principios activos que presentan mayor tiempo de uso. Consecuentemente, es importante resaltar que el uso frecuente, la no rotación del producto o el abuso en las dosis, podría generar resistencia por parte del patógeno a los diferentes principios activos y, como consecuencia, una posible resistencia negativa y cruzada.

### *Sensibilidad en campo de B. cinerea a fungicidas utilizados para su control en el cultivo de mora en los municipios de La Ceja y Silvania*

En los cultivos donde se desarrollaron los bioensayos, tanto en La Ceja como en Silvania, se presentó una alta incidencia de moho gris, debido a las constantes lluvias. La mayor incidencia de la enfermedad fue evidente en los cultivos de Silvania, donde los productores reportaron pérdidas en la producción hasta de un 50%. Tanto en La Ceja como en Silvania se desarrollaron colonias de *B. cinerea* en las cajas Petri correspondientes al control, siendo mayor la presencia de colonias en las cajas expuestas en los cultivos de Silvania (entre 6 y 14 UFC), con respecto a las cajas expuestas en los cultivos de La Ceja (entre 4 y 10 UFC) (Figura 7).

De los siete fungicidas evaluados, Carbendazim, Benomil y Difenconazole fueron los principios activos que registraron la mayor cantidad de UFC de *B. cinerea*, siendo mayor para los cultivos de Silvania (entre 4 y 11 UFC para Carbendazim, entre 1 y 7 para Benomil y entre 1 y 5 para Difenconazole), en tanto que para los cultivos de La Ceja se encontró entre 3 y 7 UFC para Carbendazim, entre 1 y 3 para Benomil y entre 1 y 3 para Difenconazole (Figura 7).

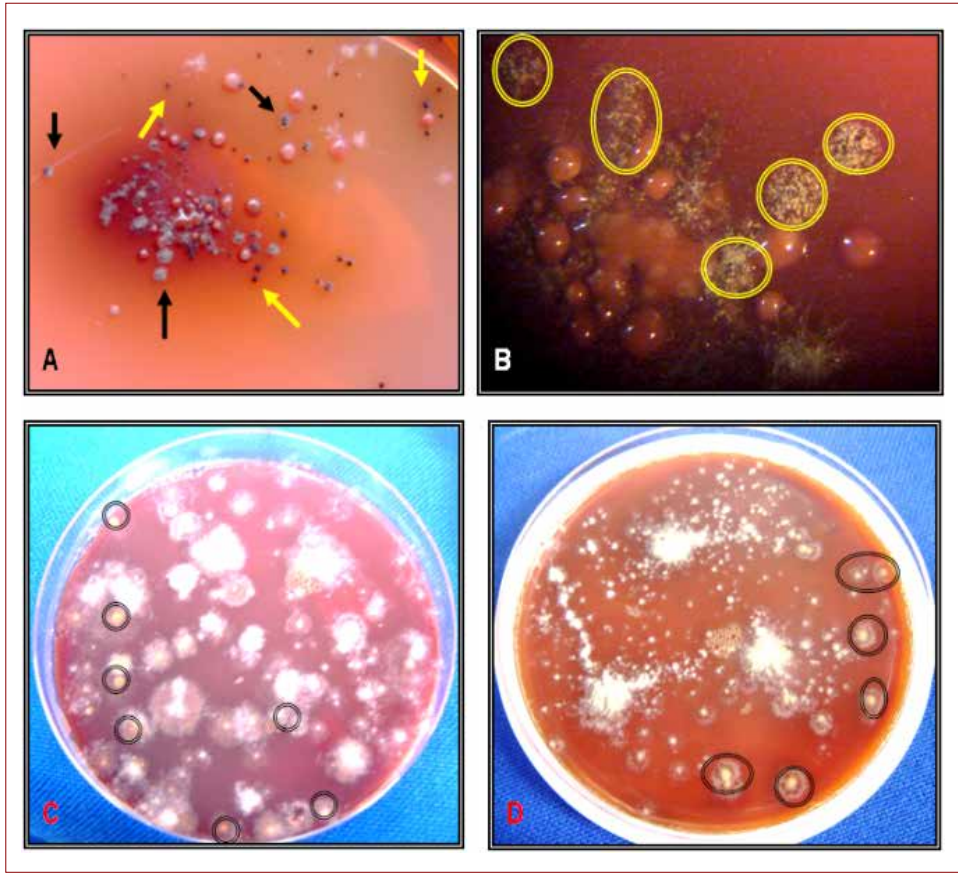
En cuanto a Captan, en la dosis completa se registró 1 UFC en uno de los cultivos de Silvania, mientras que para la dosis media se encontró 1 UFC para uno de los cultivos de La Ceja, y entre 2 y 3 UFC para dos cultivos de Silvania. Por otra parte, para Iprodión, en la dosis completa, se presentó 1 UFC en uno de los cultivos, tanto de La Ceja como de Silvania, en tanto que para la dosis media solo tres cultivos de La Ceja presentaron desarrollo de, al menos, 1 UFC (Figura 7).



**Figura 7.** Unidades formadoras de colonia de *B. cinerea* obtenidas en las cajas Petri expuestas en cultivos de mora: **A.** Municipio de La Ceja. **B.** Municipio de Silvania.

Por otro lado, para Procloraz y Mancozeb no se registró el crecimiento de *B. cinerea* en ninguno de los cultivos de los dos municipios, planteando la posibilidad de que en estos cultivos no existen poblaciones del patógeno resistentes a estos productos (Figura 7).

Carbendazim, Benomil y Difenoconazol fueron los fungicidas que presentaron la mayor cantidad de UFC en todos los cultivos; con respecto a Captan e Iprodión, con estos, aunque se evidenció desarrollo del patógeno, fue limitado tanto en la cantidad de UFC como en la cantidad de cultivos. Si bien Carbendazim, Benomil y Difenoconazol no tienen efecto sobre la germinación de los conidios (lo que haría suponer que una vez que el



**Figura 8.** Crecimiento de *B. cinerea* en medio BSM con tres fungicidas en su dosis completa. A. Colonias (flechas negras) y esclerocios (flechas amarillas) en medio con Difenoconazole. B. Imagen aumentada de las colonias en el mismo medio, en la que se observa en las colonias (círculos amarillos), los conidióforos y los conidios del hongo. C. Colonias (círculos negros) en medio con Benomil. D. Colonias (círculos negros) en medio con Carbendazim. Se observa el cambio de color del medio de cultivo por acción de la degradación del ácido tánico por la enzima lacasa.

conidio alcanza el medio de cultivo, podría germinar pero no alcanzar un desarrollo notable). Los resultados obtenidos sugieren que podría haber un fenómeno de resistencia de este patógeno a los tres productos mencionados.

## Conclusiones

Los aislamientos de *B. cinerea* evaluados presentaron tolerancia a los fungicidas Benomil, Carbendazim y Mancozeb, ya que la germinación de los conidios, el crecimiento diametral, la colonización y el crecimiento

del hongo en los discos de foliolos no se vio afectado. De igual forma, en la evaluación de la tolerancia de *B. cinerea* en campo, estos fungicidas mostraron no ser efectivos en el control del patógeno.

Los fungicidas Difenoconazol y Procloraz fueron efectivos para el control de *B. cinerea*, ya que inhibieron la germinación de los conidios y el crecimiento del hongo *in vitro*.

## Referencias bibliográficas

- Benito, P.; Arranz, M. & Eslava, A. (2000). Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. En: *Rev. Iberoam. Micol* 17: S43-S46.
- De Liñán, V. (1997). *Farmacología vegetal*. Ediciones Agrotécnicas, S.L. España. Pp. 108, 177, 182, 368, 663, 708 y 909.
- Edwards, S.G. & Seddon, B. (2001). Selective Media for the Specific Isolation and Enumeration of *Botrytis cinerea* Conidia. En: *The Society for Applied Microbiology* 32: 63-66.
- Elad, E.; Williamson, P.; Tudzynski, P. & Delen, N. (2004). *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. En: *Springer* 13: 195-217.
- Ellis, M.; Converse, R.; William, R. & Williamson, B. (1991). *Compendium of Raspberry and Blackberry Diseases and Insects*. APS Press. The American Phytopathological Society, USA. Pp. 21-23.
- Hayashi, K.; Schoonbeek H. & Waard, M. (2002). Expression of the ABC Transporter BcatRD From *Botrytis cinerea* Reduces Sensitivity to Sterol Demethylation Inhibitor Fungicides. En: *Pesticide Biochemistry & Physiology* 73: 110-121.
- Jiang, J.; Ding, L.; Michailides, T.; Li, H. & Ma, Z. (2009). Molecular Characterization of Field Azoxystrobin-resistant Isolates of *Botrytis cinerea*. En: *Pesticide Biochemistry and Physiology* 93: 72-76.
- Kerssies, A. (1990). A Selective Medium for *Botrytis cinerea* to be Used in a Spore-trap. En: *Netherlands Journal of Plant Pathology* 96: 247-250.
- Latorre, B.A.; Spadaro, I. & Rioja, M.E. (2002). Occurrence of Resistant Strains of *Botrytis cinerea* to Anilinopyridine Fungicides in Table Grapes in Chile. En: *Crop Protection* 21: 957- 961.
- Mikani, A.; Etebarian, H.R.; Sholberg, P.L.; O`Gorman, D.T.; Sotkes, S. & Alizadeh, A. (2007). Biological Control of Apple Gray Mold Caused by *Botrytis allii* with *Pseudomonas fluorescens* Strains. En: *Postharvest Biology and Technology* 48: 107-112.
- Pardo C., Víctor M. (1995). *Hongos fitopatógenos de Colombia*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Medellín. 54 p.
- (RAP-AL) *Red de acción en plaguicidas y sus alternativas para América Latina*. Oficina de Comunicaciones y Administración. (2008). [En línea]  
[http://www.rap-al.org/articulos\\_files/Benomil\\_Enlace\\_81.pdf](http://www.rap-al.org/articulos_files/Benomil_Enlace_81.pdf). [Consultado: diciembre de 2011].