



## Efecto de extractos vegetales y fungicidas químicos sobre *Botrytis spp* en azucena (*Lilium candidum*), bajo condiciones de laboratorio en Chachapoyas, Amazonas

### Effect of plant extracts and chemical fungicides on *Botrytis spp* in lily flower (*Lilium candidum*), under laboratory conditions in Chachapoyas, Amazonas

Santos Triunfo Leiva Espinoza<sup>1\*</sup>, Patricia Delgado Campos<sup>2</sup> y Nuri Carito Vilca Valqui<sup>3</sup>

#### RESUMEN

La producción de flores de azucena (*Lilium candidum*) se convierte en una importante alternativa de negocio a nivel regional y nacional por ser una especie ornamental de alta demanda en floristerías de diferentes mercados. Sin embargo, este cultivo está afectado principalmente por el hongo fitopatógeno *Botrytis spp*, que puede causar una significativa reducción del rendimiento en cantidad y calidad de los botones florales. En atención a este problema fitopatológico, se plantean nuevas alternativas de manejo y control fitosanitario que permitan una eficiente represión del agente causal y consiguiente control de la enfermedad. Se propone el uso de herramientas de control amigables con el medio ambiente y de fácil acceso al productor. En este sentido, se llevó a cabo la presente investigación con el objetivo principal de evaluar el efecto de extractos naturales y fungicidas químicos inhibiendo el desarrollo del hongo *Botrytis spp* en condiciones de laboratorio. Para ello se evaluó el efecto que tienen los extractos de *Eucalyptus sp*, *Allium sativum* y *Chenopodium ambrosioides* a razón de 200  $\mu$ L, y de *Carbendazim* 4  $\mu$ L, y (*Cimoxanil+Propineb*) 2 mg por placa de 20 ml de medio PDA. El análisis estadístico indicó una alta significancia del tratamiento T6 (*Cimoxanil+Propineb*) ante los demás tratamientos, ya que este inhibió totalmente el hongo, mientras que en la estrategia sostenible fue el T5 (extracto de ajo) el que respondió mejor.

**Palabras clave:** ornamentales, fitopatógenos, Taquia, azucena

#### ABSTRACT

The production of lily flowers (*Lilium candidum*) becomes an important business alternative at regional and national level as it is an ornamental species of high demand in florists of different markets. However, this crop is mainly affected by the phytopathogenic fungus *Botrytis spp*, which can cause a significant reduction in the quantity and quality of floral buds. In view of this important phytopathological problem, new alternatives of phytosanitary control and management are proposed, which allow efficient repression of the causal agent and consequent control of the disease. It proposes the use of environmentally friendly control tools and easy access to the producer. In this sense, the present research was carried out with the main objective of evaluating the effect of natural extracts and chemical fungicides inhibiting the development of the fungus *Botrytis spp* in laboratory conditions. The effect of the extracts of *Eucalyptus sp*, *Allium sativum* and *Chenopodium ambrosioides* at 200  $\mu$ L, and Carbendazim 4  $\mu$ L, and (*Cimoxanil + Propineb*) at 2 mg per 20 ml of PDA medium were evaluated. Statistical analysis indicated a high significance of the T6 treatment (*Cimoxanil + Propineb*) compared to the other treatments, since this totally inhibited the fungus, whereas in the sustainable strategy it was the T5 (garlic extract) that responded better.

**Keywords:** ornamental, phytopathogens, Taquia, lily

<sup>1</sup>Ingeniero Agrónomo. Investigador del INDES-CES, UNTRM.

<sup>2</sup>Bachiller en Ingeniería Agrónoma. Investigadora del INDES-CES, UNTRM. E-mail: patricia\_11\_60@hotmail.com

<sup>3</sup>Bachiller en Ingeniería Ambiental. Investigadora del INDES-CES, UNTRM. E-mail: nvilca@indes-ces.edu.pe

\*Autor de correspondencia. E-mail: santos.leiva@untrm.edu.pe

## I. INTRODUCCIÓN

El sector florícola posee una de las industrias más fuertes en muchos países desarrollados y en vías de desarrollo (ProEcuador, 2013). Las flores de azucena (*Lilium candidum* L.) forman parte de un género que incluye más de 100 especies nativas tanto de Norte América como de Europa y Asia (Benschop *et al.*, 2010). Hoy en día es una especie ornamental de alta demanda en diferentes mercados nacionales e internacionales (Mucaji *et al.*, 2000).

En los anexos Taquia, Maripata y Opelel, del Distrito Chachapoyas, en la región Amazonas, las azucenas han encontrado condiciones de clima y suelo ideales para su producción, motivo por el cual los agricultores asentados en esta región han encontrado en este cultivo una importante alternativa productiva, que además, ha convertido esta actividad en la principal fuente de ingresos económicos (Leiva, 2015).

El negocio de flores de azucena, hoy en día se ve amenazado por la presencia de agentes bióticos externos como las plagas y enfermedades que contribuyen con el incremento de los costos de producción, y disminuyen la calidad del producto en la cosecha; en este sentido, las manchas foliares y del botón floral causados por el hongo *Botrytis* spp son el principal problema fitopatológico que amenaza a este cultivo.

Por otro lado, habiendo identificado el hongo *Botrytis* spp como el causante de una severa patología en el cultivo de azucena, se hace necesario buscar alternativas de control que puedan contribuir con la represión de este importante problema. *Botrytis* spp tiene la capacidad de infectar un amplio rango de hospedantes, causando diferentes daños en los tejidos de la planta y produciendo la llamada enfermedad del tizón (Leyva-Mir *et al.*, 2009), que genera infección en las hojas y botones florales, con colores característicos en el micelio (Agrios, 1995).

A fin de mitigar los daños causados por *Botrytis* spp, los dithiocarbamatos, son el principal grupo de fungicidas utilizados por los productores de azucenas; en este sentido se reportan altas frecuencias de

aplicación, que van desde 10 - 15 aplicaciones por campaña. El control químico es efectivo en la mayoría de los casos, consiguiendo elevadas reducciones de los daños, aunque también puede ser variable o ineficaz, dependiendo de las condiciones meteorológicas y de una correcta aplicación del producto en momentos clave del desarrollo de la enfermedad (Calvo, 2013). Esto lleva a la búsqueda de nuevas alternativas de manejo de enfermedades como la utilización de extractos vegetales, que es una opción que permite una producción agrícola sostenible y menos contaminante (Vivero y Castaño, 2006).

Una de las alternativas de control de plagas y enfermedades, es el uso de productos de origen natural, como los fungicidas vegetales o biocidas, que además de tener la gran ventaja de ser compatibles con compuestos naturales, aumentan su efectividad y son de bajo riesgo de contaminación. La acción de diferentes extractos de plantas se ha observado y reportado; por ejemplo, las hojas de yuca protegen las raíces de la misma planta contra orugas, ya que libera sustancias de tipo cianogénicas que son tóxicas contra dicha plaga (Vázquez *et al.*, 2007).

Los extractos de plantas cumplen un rol muy importante en la agroecología, por el beneficio al medio ambiente y al ecosistema cuando son usados como alternativa para el tratamiento de enfermedades infecciosas en las plantas, causadas por organismos fitopatógenos (Jiménez y Mosquera, 2014).

Por lo expuesto anteriormente, con el siguiente trabajo se pretende determinar el efecto de tres extractos naturales; paico (*Dysphania ambrosioides*), eucalipto (*Eucalyptus* sp) y ajo (*A. sativum*), y dos fungicidas químicos *Carbendazim* y (*Cimoxanil+Propineb*), sobre *Botrytis* spp bajo condiciones de laboratorio.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

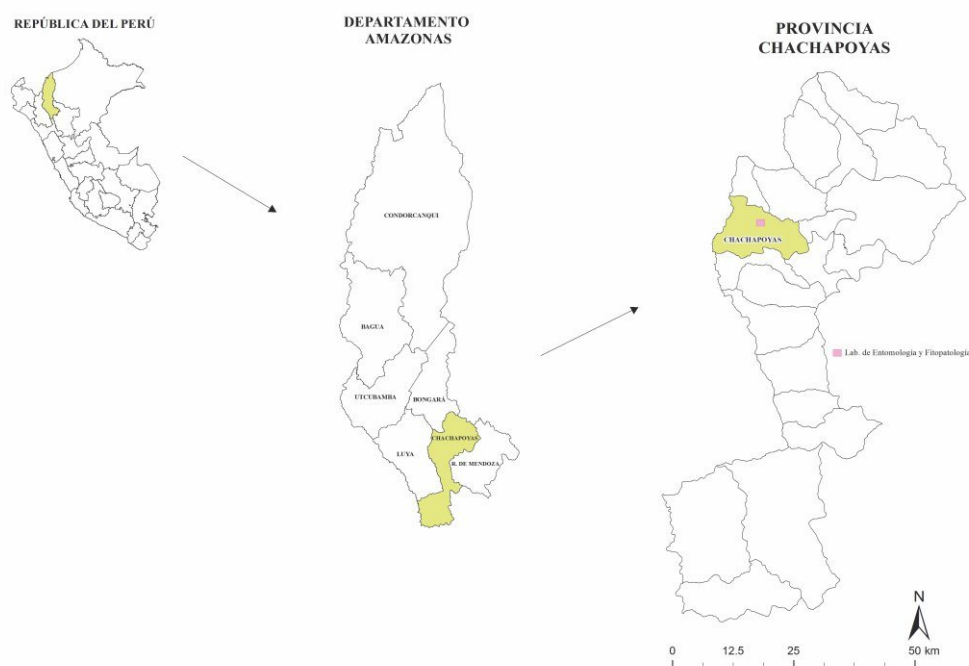
### Colecta de muestras infestadas por *Botrytis* spp

Las muestras se obtuvieron en la localidad de Maripata (distrito de Chachapoyas). Para aislar el hongo *Botrytis* spp, en primer lugar se colectaron muestras de 200 gramos de tallos, hojas y flores de azucena (*Lilium*

*candidum*) con síntomas de ataque del hongo. Para proteger la muestra se cubrió con papel toalla, para, a continuación, introducirse en bolsas plásticas dentro de una nevera portátil para su traslado al laboratorio de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza (UNTRM) de Entomología y Fitopatología (Figura 1).

### Aislamiento de hongo *Botrytis* spp

Se tomaron las muestras más representativas (estructura central de parte sana y enferma de las azucenas), se cortaron en pequeños trozos de 1 cm x 1 cm de tallo, de hojas y de flores. De cada muestra, por separado, se escogió la estructura vegetal y se colocó en un matraz dejándose en agua corriente durante una hora.



**Figura 1.** Ubicación del laboratorio de Entomología y Fitopatología de la UNTRM, localidad de Chachapoyas (provincia de Chachapoyas)

Trascurrido este tiempo se lavó con lejía al 1% por cuatro minutos, se enjuagó tres veces con agua destilada esterilizada y se dejó secar en una placa con papel toalla estéril. Una vez que las muestras estuvieron secas, se sembraron en placas Petri con medio de Cultivo Agar Papa dextrosa (PDA), y se incubaron a 25 °C por siete días. Una vez transcurrido este periodo se procedió a la identificación del hongo fitopatógeno.

### Preparación de los extractos vegetales

Para los extractos de paico (*Chenopodium*

*ambrosioides*), eucalipto (*Eucalyptus* sp) y bulbos de ajo (*Allium sativum*), se usaron hojas sanas, adultas y sin daños físicos en las dos primeras especies, y bulbos en el caso de la tercera. Se licuaron por separado, colocando 200 g de cada especie en 1 L de agua destilada. Este licuado se filtró a través de dos capas de gasa para obtener los extractos. Posteriormente, cada uno se envasó, codificó y esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

Por otra parte, se procedió a la preparación del medio PDA, empleando 20 ml del medio por cada placa, para

un total de cinco placas por cada fungicida y extracto vegetal. Al sumar los tres extractos vegetales, los dos fungicidas químicos y el testigo absoluto, resultaron un total de 30 placas.

### Dosis de aplicación

Para los extractos de *Eucalyptus* sp, *Allium sativum* y *Chenopodium ambrosioides* fueron usadas dosis de 200  $\mu$ L de extracto por placa. Para los fungicidas químicos Carbendazim, se usaron 4  $\mu$ L por placa, mientras que para *Cimoxanil* + *Propineb* se emplearon 2 mg por placa (Tabla 1).

La aplicación de los fungicidas y extractos vegetales se realizó en el momento de servir las placas. Teniendo los medios de cultivo preparados se procedió a sembrar *B. cinerea*, y colocarlos en la incubadora a 25 °C para iniciar las observaciones de crecimiento cada 24 horas.

La investigación se trabajó con un Diseño Completamente al Azar (DCA), y los resultados obtenidos de evaluación fueron evaluados con un ANDEVA al 5% de significancia; además se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Duncan ( $\alpha \leq 5\%$ ). Para todas estas pruebas se utilizó el software estadístico R (R Core Team, 2013).

Tabla 1. Tratamientos de la investigación

| Tratamientos | Descripción                      |
|--------------|----------------------------------|
| T1           | Agar PDA (testigo absoluto)      |
| T2           | Agar PDA + extracto de Paico     |
| T3           | Agar PDA + extracto de Eucalipto |
| T4           | Agar PDA + extracto de Ajo       |
| T5           | Agar PDA + Carbendazima          |
| T6           | Agar PDA + Propineb-Cymoxanil    |

Fuente: Elaboración propia

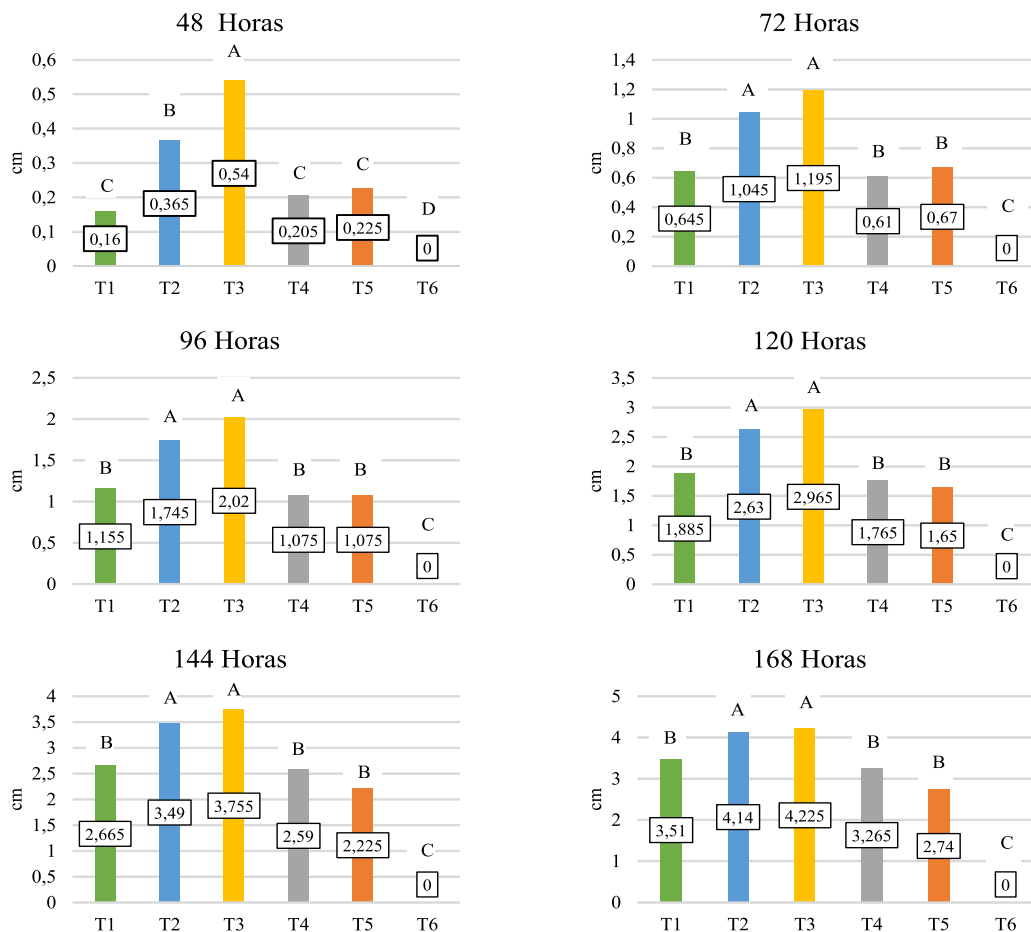


Figura 2. Proceso de evolución del crecimiento radial del micelio a las 48h, 72h, 96h, 120h, 144h y 168h.

### III. RESULTADOS

Después de aplicar las dosis correspondientes antes citadas en función de cada tratamiento, resultó que el tratamiento T3 (con extracto de paico) fue el que provocó una mayor evolución del crecimiento radial del micelio pasados los siete días de ensayo (Figura 2). Cabe destacar que su acción se hizo efectiva desde las primeras 48 horas, a partir de las cuales su crecimiento superó al del resto en cada una de las observaciones realizadas cada 24 horas hasta los siete días mencionados. Siguiendo al T3, se situó el T2 (con extracto de eucalipto), y a continuación alternaron posiciones a lo largo de la semana de ensayo los tratamientos T1 (testigo absoluto), T4 (con extracto de

ajo) y T5 (con carbendazima). Finalmente, pasadas las 168 horas, fue el T1 el que obtuvo un crecimiento radial mayor de los tres.

En la figura 3, se puede apreciar la evolución del crecimiento radial del hongo *Botrytis cinerea*, a lo largo de los siete días de ensayo, destacando, como antes se ha descrito, a los tratamientos T3 y T2 como los máximos exponentes del crecimiento, respectivamente.

Finalmente, resulta destacable que en el tratamiento T7 (Propineb + Cymoxanil) no se observó crecimiento de *B. cinerea*, sino más bien se evidenció una inhibición del mismo.

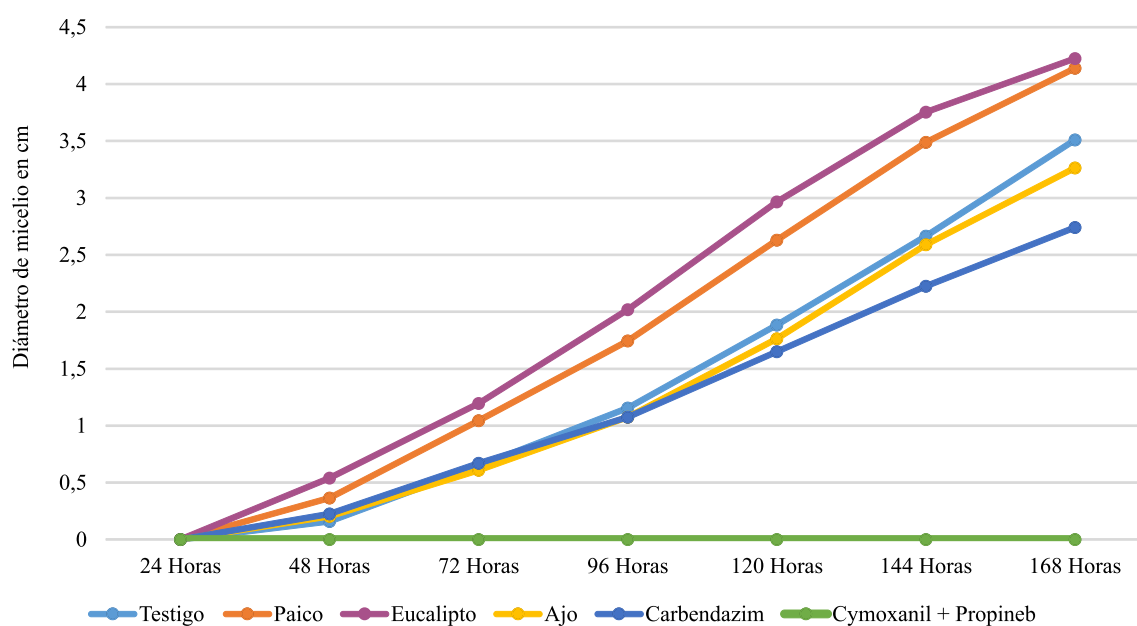


Figura 3. Curvas de evolución del crecimiento radial del hongo *Botrytis* spp en centímetros, evaluados cada 24 horas y por tratamiento

### IV. DISCUSIÓN

La naturaleza de la investigación indica que en la primera evaluación no se obtuvieron datos; sin embargo, a partir de la segunda evaluación (pasadas 48 h) se encontró que según el análisis estadístico y mediante la probabilidad de Duncan (5%) el tratamiento T6 (Propineb-Cymoxanil) logró inhibir en su totalidad el crecimiento del hongo fitopatógeno, obteniendo una alta significancia en comparación con el resto de

tratamientos. Estos datos obtenidos a partir del Propineb se podrían comparar con otros usando el mismo compuesto, en otro área del conocimiento, y con resultados similares (Barrera *et al.*, 2008). Los tratamientos T1, T4 y T5 no se diferenciaron estadísticamente entre sí, sin embargo al compararlos con T2 y T3, si apareció significancia. Esto se corrobora con los estudios realizados por Bonilla y Sandoval (2002), donde se evaluaron *in vitro* los

fungicidas Octave 50% (prochloraz), Curacarb 50% (carbendazin), Fundazol 50% (benomyl), Silvacur Combi 50% (tebuconazol + triadimenol) y TMTD 80% (Thiram) para el control de *Sarocladium oryzae*, agente causal de la pudrición de la vaina del arroz. En dicho estudio se obtuvo que los productos Octave 50% (prochloraz), Fundazol 50% (benomyl) y Curacarb 50% (carbendazin) produjeron una inhibición completa del crecimiento micelial del hongo a partir de 5 ppm. En este sentido, y al compararlo con los resultados obtenidos en la presente investigación, se podría asemejar estos productos al Propineb + Cymoxanil.

De los tres extractos naturales evaluados (paico, eucalipto y ajo), solo el extracto de ajo superó la inhibición del crecimiento radial del micelio de *Botrytis*. Estudios realizados por Jiménez y Mosquera (2014) obtuvieron que de los nueve extractos evaluados, solo el extracto diclorometánico de las hojas de *Ruta graveolens* inhibió la germinación de conidios de *Botrytis cinerea* en un 57,5%, con un valor de CIM de 62,5  $\mu\text{g/mL}$ . Las razones serían que a esta planta se le atribuye la presencia de metabolitos secundarios como curaminas, flavonoides y alcaloides, que fueron los más abundantes detectados en este extracto. Por otro lado estos resultados son congruentes a la conclusión que se extrae de Pardo (2013), en la cual se expresa que el extracto alcohólico de eucalipto no muestra actividad fungicida a las concentraciones ensayadas. En esta investigación el extracto de eucalipto se trabajó en la concentración de 200  $\mu\text{L}$ , lo que significa que a la concentración utilizada no ayuda en el control del hongo. Según estudios realizados por Zambrano *et al.* (2013), donde se evaluó el control de *Colletotrichum* sp, agente causal de la antracnosis en el cultivo de tomate de árbol, mediante el uso de siete extractos vegetales de hojas y frutos de neem (*Azadirachta indica*), hojas de limoncillo (*Swinglea glutinosa*), hojas de papaya (*Carica papaya*), hojas de pringamosa (*Urtica dioica*), hojas de eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*), frutos de ajo (*Allium sativum*) y frutos

de ají (*Capsicum annum*), se obtuvieron mejores resultados con la aplicación de hojas de eucalipto, seguidos por fruto de neem y bulbos de ajo. En este caso el eucalipto pudo destacar debido a sus propiedades antimicóticas (Alzate *et al.*, 2009), o a la presencia de quinonas, lactonas y curaminas, también antimicóticas (Cázar *et al.*, 2015). Sin embargo, estos resultados son diferentes a los obtenidos en la presente investigación, y las causas pueden estar en el uso de altas dosis y etanol, además de tratarse de otro hongo. Alcalá de Marcano *et al.* (2005) comprobaron el efecto antifúngico de extractos de tártago (*Ricinus communis*) albahaca (*Ocimum basilicum*), mastuerzo (*Lepidium virginicum*), y ajo (*Allium sativum*). Para terminar, existen otros extractos de plantas con efectos antifúngicos, como las hojas de *Manihot esculenta* (Vázquez *et al.*, 2007), las hojas de *Larrea tridentata*, *Quercus* sp, o *Flourensia cernua* (Galván *et al.*, 2014) Los resultados señalaron al ajo como una alternativa a ser incorporada en una estrategia de manejo de estos hongos. En este sentido, son numerosos los estudios que describen al ajo como solución natural y sostenible en el control de *Botrytis cinerea* (Jiménez y Mosquera, 2014), así como de otras plagas, debido a sus características antifúngicas (e. g. Miño y Uriceochea, 2001; Ramírez *et al.*, 2007; Astorga-Quirós *et al.*, 2014), repelentes, bactericidas e insecticidas, precedentes de sus contenidos en alina, alieina, cicloide de alitina, y disulfato de dialil (Dávila *et al.*, 2013).

## V. CONCLUSIONES

El crecimiento del hongo *Botrytis* frente a los tres extractos vegetales se comportó de manera diferente, resultando que ni el extracto de paico ni el de eucalipto inhibieron el crecimiento del hongo, en comparación con el de ajo, a partir del cual si se apreció cierta inhibición.

Los tratamientos químicos establecidos, a la dosis de carbendazim (4  $\mu\text{L}$  por placa de 20 ml de medio y Cymoxanil + Propineb: 2 mg por placa de 20 ml de medio), mostraron que el fungicida compuesto por

carbendazim sí inhibe el crecimiento micelial del hongo, pero no en su totalidad. Por el contrario, el fungicida compuesto por carbendazim + propineb inhibe el crecimiento micelial del hongo completamente, por lo que este fungicida resultó ser el más efectivo y eficiente en el control de esta enfermedad causada por *Botrytis cinerea*.

### ¡ÁFICAS

- Agrios, J. N. 1995. Fitopatología. México D. F. (México): Libros Agronómicos.
- Alcalá de Marcano, D., N. Vargas y A. Pire. 2005. "Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. *Revista de la Facultad de Agronomía* 22.
- Alzate, N. A., V. K. Lopez y A. W. Murillo. 2009. "Evaluación preliminar de la actividad fungicida de los aceites esenciales de eucalipto (*Eucalyptus tereticornis*, Myrtaceae) y cáscara de naranja (*Citrus sinensis*, Rutaceae) sobre algunos hongos filamentosos". *Umbaga* 1: 59–71.
- Astorga-Quirós, K., C. Zúñiga-Vega y W. Rivera-Méndez. 2014. "Aislamiento e identificación de patógenos de la estirpe silvestre del ajo (*Allium sativum* L.)". *Tecnol Marcha* 27 (2014): 77–84.
- Barrera, C. H., L. C. Pardo, L. C y G. D. Cortina. 2008. "Antracol WP 70 genotoxicity in human lymphocyte cultures". *Colombia Médica* 39: 29–34.
- Bonilla, T. y I. Sandoval. 2002. "Evaluación *in vitro* de cinco fungicidas para el control de *Sarocladium oryzae*". *Fitosanidad* 1: 19–21.
- Calvo, C. 2013. *Control de la podredumbre por Botrytis cinerea mediante la aplicación de Candida sake CPA-1 y otras estrategias alternativas a los fungicidas químicos en uva de vinificación*. Tesis de Doctorado. Universidad de Lleida. Lleida (España).
- Cázar, M. E., P. Villena, J. Parra, V. Espinoza, G. Larri-va y A. Caldas. 2015. "Eficacia de extracto etanólico de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) en el control de *Alternaria* sp. en cultivos de col y patata". *Maskana* 5: 33–41.
- Dávila, R., R. Sosa, A. Navarro, V. Téllez y M. Lazcano. 2013. "Evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana de un extracto oleoso de poro (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*)". *Revista de la Sociedad Química del Perú* 79.
- Galván, J. V., C. A. G. Díaz y R. G. Fernández. 2014. "Efecto de los extractos acuosos de hojas de plantas de gobernadora (*Larreas tridentata*), hojases (*Flourensia cernua*) y encino (*Quercus pungens*), sobre el crecimiento micelial *in vitro* de hongos fitopatógenos. *Acta Universitaria* 24: 13–19.
- Gepp, V. y P. Mondino. 2011. *Control químico de plagas*. Montevideo (Uruguay): FAGRO.
- Jiménez, E. V. y O. M. Mosquera. 2015. "Actividad antifúngica *in vitro* de tres extractos de plantas frente a *Botrytis cinerea* (Moho gris)". *Salud y Sociedad* 1.
- Korovkin, T. y O. Sanmiguel-Valderrama. 2007. "Estándares de trabajo e iniciativas no estatales en las industrias florícolas de Colombia y Ecuador". *ÍCONOS* 29: 15-30.
- Leiva, S. *Producción y comercialización de azucena de la asociación de productores agropecuarios Maripata–Opelel*. Informe Final Programa Procompite. Gobierno Regional de Amazonas. Chachapoyas (Perú).
- Leyva-Mir, S. G., Y. López-Hernández, B. Tlapal-Bolaños y R. Flores-Martínez. 2009. "Etiología del tizón descendente de las ramas de azucena híbrida (*Lilium* spp.) en Villa Guerrero, Estado de México. *Revista Chapingo. Serie horticultura* 15: 5–8.
- Miño, J. y J. Urichechea. 2001. *Evaluación de seis métodos farmacológicos de preparación de extractos de repollo (Brassica oleraceae), ajo (Allium sativum) y eucalipto (Eucalyptus*

- globulus*) en el control de *Botrytis cinerea* Pers. ex. Fr. en el cultivo de la mora (*Rubus glaucus*) en condiciones de laboratorio en Tunja, Boyacá. Tesis de Grado. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Boyacá (Colombia).
- Pardo, J. 2013. *Ensayo de un extracto de eucalipto como fungicida frente a Phytophthora capsici*. Tesis de Grado. Universidade da Coruña. A Coruña (España).
- ProEcuador. 2013. *Análisis sectorial de flores*. Guayaquil (Ecuador): ProEcuador.
- R Core Team. 2013. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org/>.
- Ramírez, M. G., D. Remirez y O. L. Jacobo. 2007. “Antecedentes y situación reguladora de la medicina herbaria en Cuba”. *BLACPMA* 4: 118–124.
- Vázquez, A., L. Pérez y R. Díaz. 2007. “Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria”. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5: 306–313.
- Vivero, J. y J. Castaño. 2006. “Evaluación in vitro de extractos vegetales sobre *Mycosphaerella fijiensis*”. *Agronomia* 1: 37–50.
- Zambrano, C. C., M. L. B. Medina, S. C. S. González y C. A. Isidro. 2013. “Evaluación a nivel de laboratorio del efecto de 7 extractos vegetales para el control de *Colletotrichum* sp agente causal de la antracnosis en el cultivo de tomate de árbol”. *INNOVACIENCIA* 1: 30–35.