



REVISTA
MEXICANA DE
FITOSANIDAD

Sección

Artículo científico.

2(2): Pp: 37-48

Fecha de publicación:

05-noviembre-2018.

Recibido:

22-05-2018

Aceptado:

10-09-2018

Correos electrónicos

^{1,1}chicalo555@gmail.com

^{1,1}alarcongjm@gmail.com

^{1,3}lucy0988@gmail.com

^{2,1}betsy.piobe@gmail.com

^{4,1}teotsintli@gmail.com

^{5,1}talavera@cucsur.udg.mx

ISSN: 2448-9093

Edita

Sociedad Mexicana de
Fitosanidad.

Calle Amado Nervo s/n,
Tepatepec.

Francisco I. Madero,
Hidalgo. C. P. 42660.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FUNGICIDA DE CUATRO EXTRACTOS VEGETALES SOBRE CONTROL DE MANCHA CHOCOLATE *Botrytis fabae*¹ EN HABA *Vicia faba* L.² EN PUEBLA, MÉXICO

JOSÉ CARLOS MARTÍNEZ DELGADO^{1,1}, BETSABE PIEDRAGIL-OCAMPO^{2,1}, ABRAHAM MONTEON-OJEDA^{3,1*}, JORGE SAN JUAN LARA^{4,1}, JUAN MANUEL ALARCÓN GARCÍA^{1,2}, LUCÍA TORRES-RUEDA^{1,3} Y ANTONIO TALAVERA-VILLAREAL^{5,1}.

¹Instituto Tecnológico Superior de Tlatlauquitepec, Ingeniería en Innovación Agrícola Sustentable, Carretera Federal Amozoc-Nautla Km. 122+600, Almoloni, Tlatlauquitepec, Puebla C. P. 73900

²Universidad Autónoma de Guerrero, UACAA, Javier Méndez Aponte 1, Fraccionamiento Servidor Agrario, Chilpancingo, Guerrero, C. P. 39070.

³Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo Instituto de Fitosanidad, km 35.5, Carr. México-Texcoco, Montecillo, Estado de México, C. P. 56230

⁴Universidad Politécnica de Francisco I. Madero, Ingeniería en Agrotecnología, Domicilio Conocido SN, Francisco I. Madero, Tepatepec, Hidalgo, C.P. 42660

⁵Departamento de Producción Agrícola, Centro Universitario de la Costa sur, UdeG Av. Independencia Nacional, No.151. Autlán, Jalisco, México. C. P. 48900.

*Autor de correspondencia: abraham.monteon@gmail.com.

RESUMEN:

En algunas regiones de México el haba (*Vicia faba* L.) es una leguminosa que constituye una de las fuentes alimenticias básicas. En la zona norte de Puebla es un cultivo de importancia económica ya que representa el sustento económico, nutricional de un gran número de familias. En el cultivo se presenta diversos problemas fitosanitarios entre los que destaca la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) que causa bajos rendimientos y pérdidas económicas. El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficiencia de múltiples extractos vegetales y de un tratamiento hidrotérmico a la semilla para reducir la incidencia y severidad de mancha chocolate (*B. fabae*) en haba (*V. faba*). En este estudio pudo confirmarse a *Botrytis fabae* como el patógeno causante de la mancha chocolate del haba, de acuerdo con los resultados observados en laboratorio, árnica y ruda fueron los extractos vegetales que detuvieron con mejor efectividad el crecimiento micelial del hongo. En campo las gráficas de progreso temporal de las variables incidencia y severidad permitieron observar un comportamiento similar en todos los tratamientos como agentes químicos de control, pudo constatar que el tratamiento hidrotérmico por si solo influye directamente en la reducción de incidencia y severidad de la enfermedad. El análisis de varianzas y comparación de medias pudo identificar a Árnica y Ruda como aquellos extractos con mejores propiedades de control igualando en algunas variables al agente fungicida (Benomil) que siempre se mantuvo por encima de los demás; también, se destaca que todos los extractos con o sin tratamiento hidrotérmico obtuvieron resultados significativamente mejores a los testigos.

Palabras clave: Fungicida, incidencia, severidad, tratamiento hidrotérmico.

Evaluation of the fungicide activity of four vegetable extracts on control of chocolate spot (*Botrytis fabae*)¹ in broad bean (*Vicia faba* L.)² in Puebla, Mexico

ABSTRACT:

In some regions of Mexico, the broad bean (*Vicia faba* L.) constitutes one of the basic food sources. In the northern of Puebla is a crop of economic importance because it represents the economic and nutritional sustenance of a large number of families. The crop presents several phytosanitary problems among which the chocolate spot (*Botrytis fabae*) that causes low yields and economic losses. The objective of this study was to evaluate the efficiency of multiple plant extracts and a hydrothermal seed treatment to reduce the incidence and severity of chocolate spot (*B. fabae*) in broad bean (*V. faba*). In this study, it was possible to confirm *Botrytis fabae* as the pathogen

¹(Helotiales: Sclerotiniaceae)

²(Fabales: Fabaceae)

causing of broad bean chocolate spot, according to the results observed in laboratory, arnica and rue were the plant extracts that stopped the mycelial growth of the fungus most effectively. In the field, the temporal progress graphs of the variables incidence and severity allowed observing a similar behavior in all the treatments as chemical control agents, it could be verified that the hydrothermal treatment by itself can influence directly in the reduction of incidence and severity of the disease. The analysis of variances and comparison of means could identify to arnica and ruda like those extracts with better properties of control, equating in some variables to the fungicide agent (Benomyl) that always stayed above the others; Also, it is highlighted that all the extracts with or without hydrothermal treatment obtained significantly better results to the controls.

Keys works: Organic fungicide, fungus, postharvest control.

INTRODUCCIÓN

El haba (*Vicia faba* L.), es la leguminosa más antigua que se conoce en el mundo. En nuestro país constituye una de las fuentes alimenticias básicas y en algunas zonas un producto indispensable en la dieta como fuente de proteína (20-25 %) (FAO, 2009). En México, esta leguminosa se cultiva en la región de los valles altos de la meseta central, que comprende los estados de México, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Morelos, Michoacán y Veracruz (Medina *et al.*, 1978). Actualmente la superficie cultivada a nivel nacional es mayor a 30,000 ha con una producción en verde de más de 57,000 ton y en grano de 10,000 ton aprox. (SIAP, 2017). El estado de Puebla es el mayor productor de haba en grano, se cultivan 13,000 ha y 5000 ton anuales aprox., que representa el 48 % de la producción nacional (SIAP, 2017). En la zona norte de Puebla, el haba es un cultivo de importancia económica ya que representa el sustento económico, alimenticio y nutricional de un gran número de familias en la región. En el cultivo se presenta diversos problemas fitosanitarios entre los que destaca la mancha chocolate (*Botrytis fabae* S.) por causar bajos rendimientos y pérdidas económicas. *B. fabae* patógeno causante de la enfermedad ataca hojas, tallos, flores, vainas y granos, esto último representa un daño directo en la cantidad y calidad del producto (Harrison, 1988). El manejo tradicional de la enfermedad se ha basado en el uso de fungicidas como única medida de control, generando altos costos de producción y riesgos de selección de resistencia en los patógenos en dicha región. Con base en lo anterior es necesario generar nuevas tecnologías de control que puedan incorporarse a un sistema de manejo integrado de la enfermedad y sirvan como herramienta para productores de la región, otro punto importante

por señalar es que la nueva tendencia de agricultura ecológica y sustentable nos obliga a generar tecnologías más amables con el medio ambiente, que reduzcan riesgos de inocuidad alimentaria y sean de fácil acceso para productores. Las plantas producen compuestos con propiedades antimicrobianas que pueden ser empleadas en el control de enfermedades (Pedroso *et al.*, 2012; García-Camarillo *et al.*, 2006); diversos metabolitos secundarios derivados de los extractos de estas plantas han mostrado un efecto antimicrobiano, entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos (Cowan, 1999). El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficiencia de múltiples extractos vegetales y de un tratamiento hidrotérmico de semilla para reducir la incidencia y severidad de mancha chocolate (*B. fabae*) en haba (*V. faba*).

MATERIALES Y MÉTODO

Sitio experimental. El estudio se realizó en el Instituto Tecnológico Superior de Tlatlauquitepec ubicado a 1929 m de altitud en las coordenadas geográficas 20° 03' N, 97° 28' 06" O.

Material vegetal. Se utilizaron plantas de haba (*Vicia faba*) cv. Minor de 40 días de desarrollo (ddd). Las semillas (con y sin tratamiento hidrotérmico) se sembraron en vasos de unicel (una por vaso) con suelo y sustrato peat moss (30:70), se mantuvo la humedad en capacidad de campo y se fertilizó cada tercer día con una solución Steiner (20 ml/ planta), los vasos con las plantas germinadas se mantuvieron dentro de un invernadero hasta los 40 ddd y posteriormente se trasplantaron a campo abierto.

Aislamiento del patógeno. El procedimiento se realizó por dos métodos, el primero mediante

cámara húmeda, en donde se desinfectó material vegetal con síntomas típicos de la enfermedad utilizando una solución de metanol al 70 % por cinco segundos, luego se sumergió en una solución con hipoclorito de sodio al 5 % por 30 segundos, y un doble lavado con agua destilada estéril (30 y 60 segundos). En el fondo de contenedores de plástico previamente desinfectados con hipoclorito de sodio 5 % y metanol 70 % se depositaron toallitas esterilizadas y se adicionó agua destilada estéril hasta saturación, se colocó el material vegetal previamente desinfectado y se cerraron las cámaras húmedas hasta la esporulación del hongo; sucedido lo anterior y por medio de técnica de punta de hifa se realizaron siembras en medio de cultivo PDA (29 g* l-1) para purificación, simultáneamente se elaboraron preparaciones temporales para identificación de la especie.

El segundo método se realizó utilizando material vegetal desinfectado, este se sembró directamente sobre el medio PDA (29 g* l-1) y mediante la técnica de punta de hifa y se efectuaron reislamamientos hasta la obtención de una colonia pura. Para la identificación se realizaron observaciones de las características culturales macroscópicas de la colonia y microscópicas estructurales, utilizando las claves de Barnett (1998) y Barrón (1968). Una vez obtenida la colonia se realizaron siembras continuas con el objetivo de generar inóculo suficiente para el experimento.

Tratamiento hidrotérmico. En la fase de campo el experimento se desarrolló utilizando dos tipos de semillas, con y sin tratamiento hidrotérmico, para evaluarlo o descartar este tipo de transmisión (infección). Se utilizó el tratamiento descrito por Lewis-Ivey and Miller (2005), modificado para este estudio y consistió en colocar las semillas envueltas con la ayuda de un elástico en un trozo de tela que permita el intercambio de calor con el agua, las semillas se depositaron en un contenedor con agua destilada estéril a 37 °C y se incubó por diez minutos. Pasado este tiempo se transfirieron a otro contenedor con agua destilada estéril a 50 °C durante 25 y finalmente a otro solo con agua destilada a 23 °C por 10 minutos, una vez hecho

este proceso, las semillas se dejaron a temperatura ambiente en un tamiz por 48 horas.

Extractos vegetales. Se utilizaron plantas de clavo (*Cinnamomum verum* J. Presl), Ajo (*Allium sativum* L., Sp. Pl.), Árnica (*Arnica montana* L.) Ruda (*Ruta* sp.) y Estafiate (*Artemisia ludoviciana* Nutt.) obtenidas de la región de Zaragoza en el norte de Puebla, México. La metodología utilizada se basó en las propuestas por Novo *et al.* (1997), Parra-Henao *et al.* (2007) y Pérez-Pacheco *et al.* (2004) modificadas para este estudio. Se pesaron 5 g de brotes tiernos (vegetativos y florales) de cada especie, el tejido vegetal se maceró en un mortero utilizando 60 ml de metanol a 40° hasta obtener una masa de consistencia líquida homogénea. El contenido de cada extracto se centrifugo a 3500 rpm por 20 minutos, el sobrenadante obtenido se vació sobre vasos de precipitado y se aforó a 50 ml, el extracto en metanol se sometió a un proceso de evaporación inducida con la ayuda de un termoagitador hasta la eliminación total del metanol, el precipitado obtenido en el fondo y paredes del matraz, se resuspendió en 50 ml de agua destilada estéril para pruebas posteriores.

Fase de laboratorio. Se realizaron soluciones de cada extracto al 5 %, más otro tratamiento a base de Benomil (4 mg *l-1) y un control sin fungicida, se diluyeron sobre medio de cultivo PDA (29 g *l-1) y posteriormente se llenaron cuatro cajas Petri por dosis en condiciones de asepsia y con la ayuda de una campana de flujo laminar, posteriormente se sembró el hongo purificado y se evaluó la velocidad del crecimiento micelial midiendo el diámetro de la colonia a las 6, 12, 24, 48, 72 y 120 horas después de la siembra (hds).

Fase de campo. En plantas de 40 días de desarrollo (ddd) establecidas en campo se realizaron inoculaciones sobre hojas y tallos utilizando una brocha de pelo de camello impregnada con una suspensión de conidios (1 x 10⁵ conidios *ml-1) del aislamiento purificado de (*B. fabae*), posteriormente se realizaron dos aplicaciones de los tratamientos fungicidas (7 y 15 días después de la inoculación) los tratamientos utilizados fueron, T1 = extracto de ajo y clavo, T2 = extracto de ruda, T3 = extracto de árnica, T4 = extracto de estafiate, T5 = Benomil (4 mg *l-1),

T6 = testigo 1 (agua destilada estéril) con inoculación, T7 = testigo 2 (agua destilada estéril) sin inoculación, T8 = extracto de ajo y clavo con tratamiento hidrotérmico (CTH), T9 = extracto de ruda CTH, T10 = extracto de árnica CTH, T11 = extracto de estafiate CTH, T12 = Benomil CTH, T13 = testigo 1 (agua destilada estéril) con inoculación CTH y T14 = testigo 2 (agua destilada estéril) sin inoculación CTH. Se registró semanalmente el periodo de incubación que se cuantificó cuando se observaron los primeros síntomas, incidencia (número unidades experimentales con síntomas por tratamiento) y severidad cualitativa utilizando una escala de cinco clases propuesta por Hanounik y Robertson, (1988) donde 1 = sin síntomas de la enfermedad o síntomas muy ligeros menos del 1 % de la superficie foliar, 2 = algunas manchas pequeñas cubriendo del 1 al 2 % de la superficie foliar, 3 = lesiones típicas cubriendo del 2.1 al 5 % de la superficie foliar y esporulación pobre, 4 = manchas coalescentes con esporulaciones intermedias cubriendo del 5.1-10 % de la superficie foliar y poca defoliación, 5 = lesiones extensivas en hojas cubriendo más del 10 % de la superficie foliar, defoliación severa, abundante esporulación y muerte de plantas, y severidad cuantitativa (número de hojas con síntomas por planta).

Diseño experimental y análisis estadístico. Para el caso del ensayo en laboratorio se estableció un diseño completamente al azar utilizando cuatro repeticiones por tratamiento, en el ensayo de campo se estableció un diseño de bloques completos al azar, con tres plantas como unidad experimental y cinco repeticiones por tratamiento. Para ambos experimentos se realizó un análisis de varianzas (ANOVA) y comparación múltiple de medias de las variables periodo de incubación, incidencia y severidad utilizando la prueba estadística Tukey ($p < 0.05$) con la ayuda del software estadístico SAS system 12.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase de laboratorio. Pudo identificarse por medio características culturales de la colonia y microscópicas utilizando las claves de Barnett (1998) y Barrón (1968), a *B. fabae* como el

patógeno causante de la mancha chocolate del haba (*V. Faba*). De acuerdo con los resultados observados en laboratorio los extractos de árnica y ruda fueron aquellos que detuvieron con mejor efectividad el crecimiento micelial del hongo, en esta prueba pudo confirmarse a Benomil como el mejor tratamiento, sin embargo, ligeramente por encima de los extractos antes mencionados quienes inhibieron alrededor de un 40 % el avance micelial del hongo en comparación con el control (Figs. 1 y 2, Cuadro 1).

Es importante señalar que todos los extractos tuvieron un efecto negativo sobre el crecimiento micelial del hongo en pruebas de laboratorio y fueron significativamente superiores al control (Figs. 1 y 2, Cuadro 1). Parcialmente concordante a lo encontrado en este estudio, López-Benítez *et al.* (2005), evaluó el efecto inhibitorio de extractos acuosos de ajo, gobernadora (*Larrea tridentata* (DC.) Coville), hojas en (*Flourensia cernua* DC), clavo, canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y mango (*Mangifera indica* L.) sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Rhizoctonia solani* J. G. Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb., encontrando a los extractos de clavo y ajo como aquellos quienes inhibieron hasta en un 100 % el crecimiento de los tres hongos después de 72 h de incubación; también similar a lo reportado por Wilson *et al.* (1997), quienes evaluaron extractos de 345 plantas y 49 aceites esenciales por su actividad antifúngica contra *B. cinerea*; entre los 345 extractos de plantas analizados, 13 mostraron altos niveles de actividad antifúngica predominando las especies de *Allium* y *Capsicum*.

Así también, Castillo *et al.* (2010) documentaron que extractos de *L. tridentata* y *F. cernua* a 2000 y 1000 ppm inhibieron 100 % el crecimiento de *R. solani*. No se encontraron muchas evidencias bibliográficas donde se evaluarán extractos provenientes de algunas de las especies utilizadas en el presente estudio, sin embargo, existen múltiples especies vegetales con propiedades antifúngica y/o fungistáticas (Davicino *et al.*, 2007; Garciglia *et al.*, 2007). Pedroso *et al.* (2012), obtuvieron dos extractos de *Acacia farnesiana* Wall. uno hidroalcohólico y otro acuoso y determinaron el efecto antifúngico de ambos extractos sobre el hongo *F. oxysporum* f.

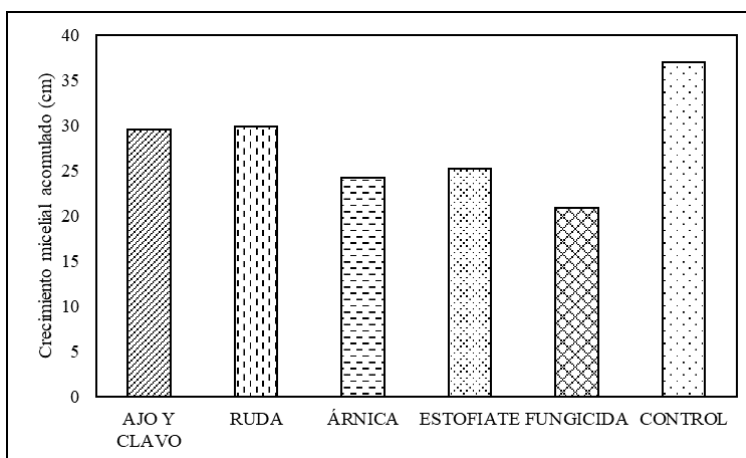


Figura 1. Crecimiento promedio de las colonias de *Botrytis fabae* bajo tratamientos de control mediante extractos vegetales.

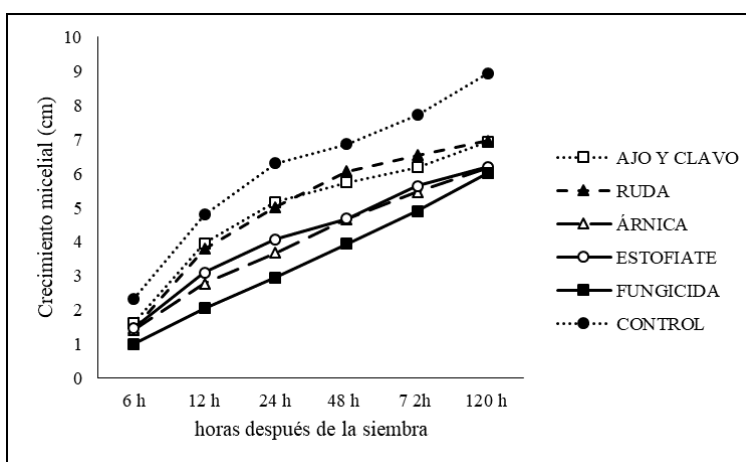


Figura 2. Progreso temporal de crecimiento micelial de las colonias de *Botrytis fabae* bajo tratamientos de control mediante extractos vegetales.

Cuadro 1. Crecimiento micelial (cm) y área bajo la curva del progreso del crecimiento micelial (ABCPE) de las colonias de *Botrytis fabae* bajo tratamientos de control mediante extractos vegetales.

Tratamientos	Crecimiento final (cm)		ABCPE	
	Media	Significancia	media	Significancia
Control	8.94	A	31.32	A
Ruda	6.96	B	25.63	B
Ajo	6.94	B	25.32	B
Estafiate	6.2	BC	21.34	C
Árnica	6.16	BC	20.39	C
Benomil	6.02	C	17.37	D

Medias seguidas por letras iguales en las columnas no son significativamente diferentes, prueba de Tukey probabilidad ($p > 0.05$).

sp. lycopersici mediante el porcentaje de inhibición del crecimiento, los extractos mostraron más de un 90 % de inhibición del crecimiento micelial desde la primera evaluación realizada a las 72 h después de la inoculación. Valenzuela *et al.* (2013), encontraron que extractos de ajo y canela mostraron un efecto

fungicida contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. suprimiendo el crecimiento micelial en 100 %, en la germinación y esporulación del hongo.

Fase de campo. Las gráficas de progreso temporal de las variables incidencia y severidad permitieron observar un comportamiento similar

en todos los tratamientos con agentes químicos de control, así también evidencian al tratamiento control (testigo) como el único con un comportamiento diferente (Figs. 3, 4, 6, 7, 9 y 10).

No hubo diferencias significativas en el periodo de incubación, presentándose a los 9 ± 1 días después de la inoculación en todos los tratamientos experimentales. Las figs. 5, 8 y 11 permiten identificar que el tratamiento hidrotérmico por si solo y sin el uso de algún otro tratamiento químico de control, influye

directamente en el porcentaje de incidencia y severidad de la enfermedad; incluso puede observarse un efecto sinérgico brindando un mayor control de la enfermedad cuando se aplicó el agente fungicida en conjunto con el tratamiento hidrotérmico (Fig. 12), lo que podría indicar que un porcentaje de la semilla se encuentra infestada con propágulos del patógeno en cuestión, y que cuando se presentan las condiciones adecuadas de ambiente y susceptibilidad se desarrolla la infección.

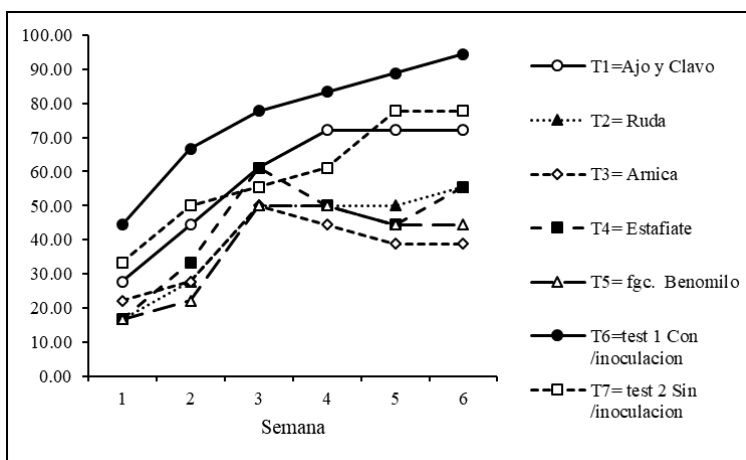


Figura 3. Progreso temporal del porcentaje de incidencia de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) registrada semanalmente en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas sin tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y bajo tratamientos de control mediante extractos vegetales.

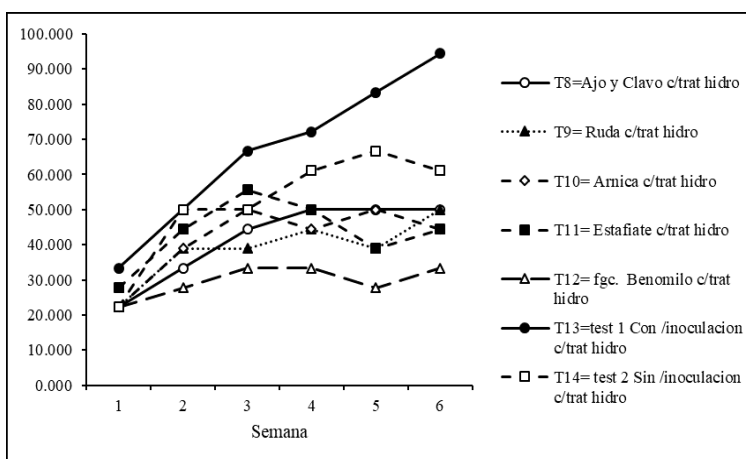


Figura 4. Progreso temporal del porcentaje de incidencia de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) registrada semanalmente en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas con tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y bajo tratamientos de control mediante extractos vegetales.

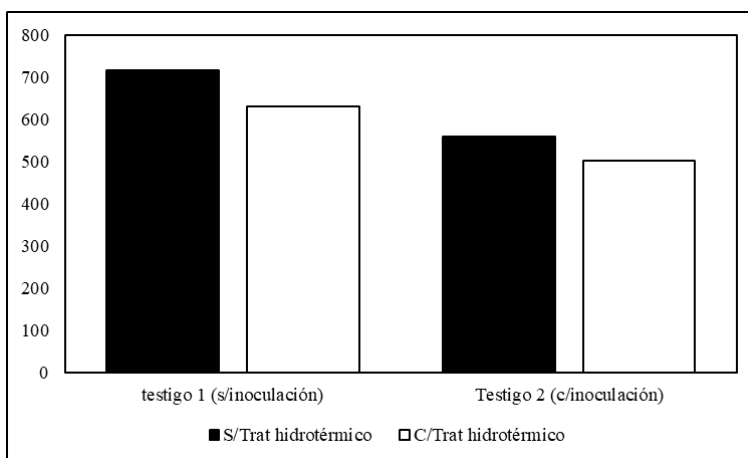


Figura 5. ABCPE de la incidencia de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) registrada semanalmente en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas con y sin tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y sin tratamientos de control químico.

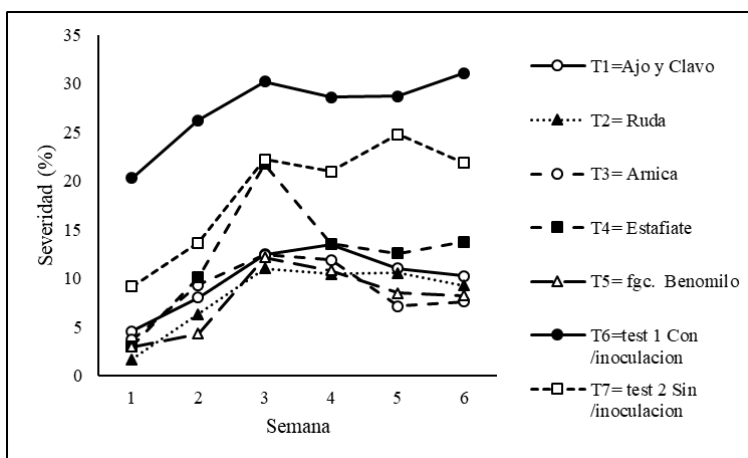


Figura 6. Progreso temporal de la severidad cuantitativa de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) registrada semanalmente en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas sin tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y bajo tratamientos de control mediante extractos vegetales.

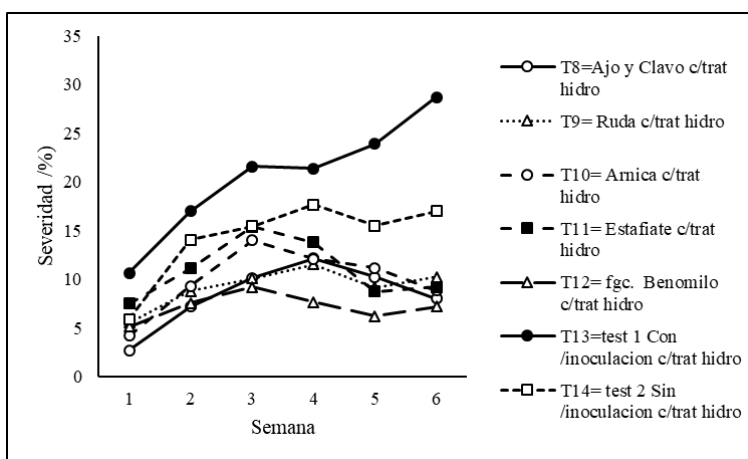


Figura 7. Progreso temporal de la severidad cuantitativa de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) registrada semanalmente en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas con tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y bajo tratamientos de control mediante extractos vegetales.

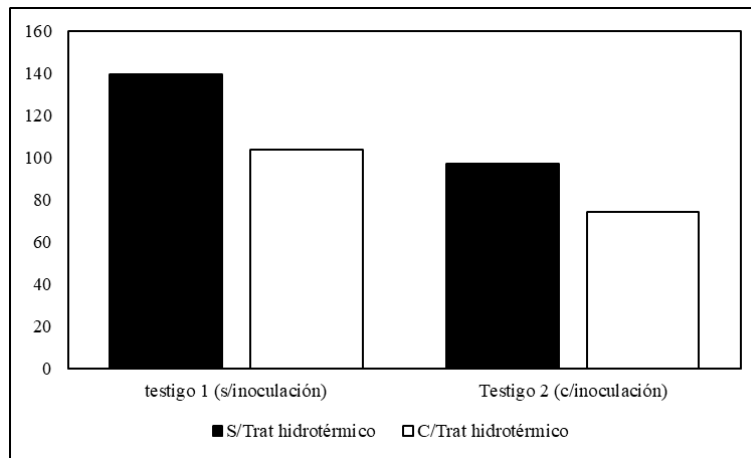


Figura 8. ABCPE de la severidad cuantitativa de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) registrada semanalmente en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas con y sin tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y sin tratamientos de control químico.

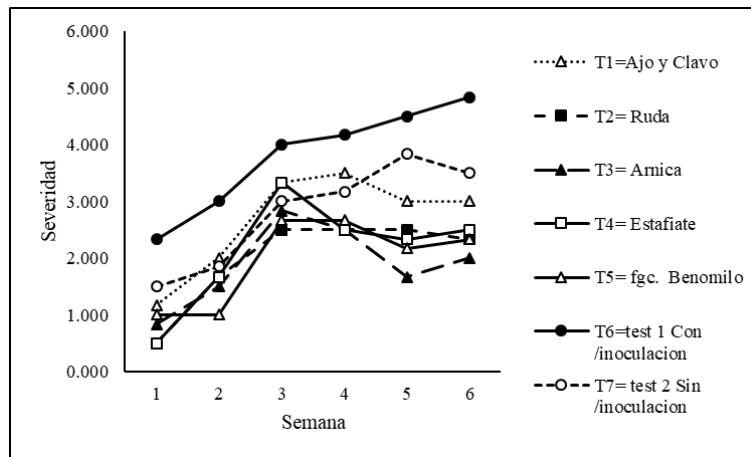


Figura 9. Progreso temporal de la severidad cualitativa (Hanounik y Robertson, 1988) de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) registrada semanalmente en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas sin tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y bajo tratamientos de control mediante extractos vegetales.

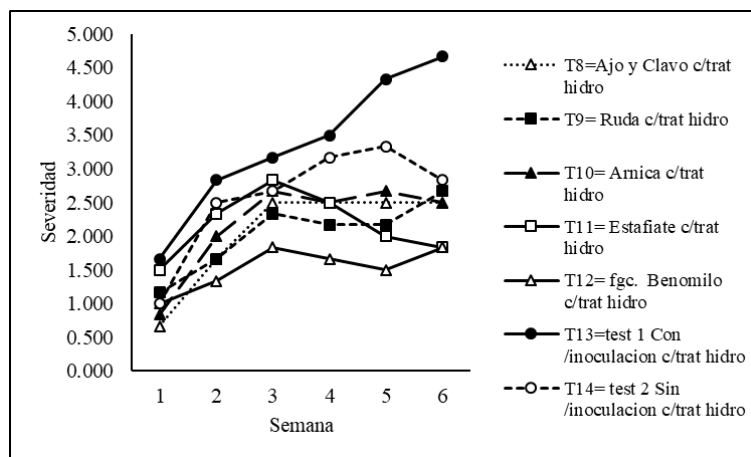


Figura 10. Progreso temporal de la severidad cualitativa (Hanounik y Robertson, 1988) de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) registrada semanalmente en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas con tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y bajo tratamientos de control mediante extractos vegetales.

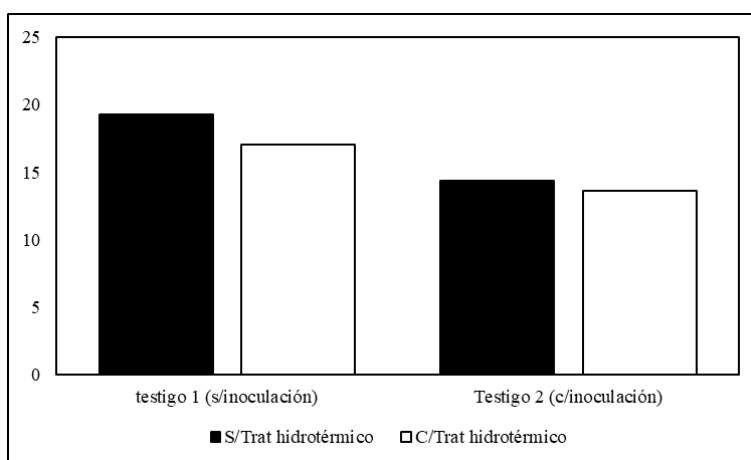


Figura 11. ABCPE de la severidad cualitativa de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) registrada semanalmente en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas con y sin tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y sin tratamientos de control químico.

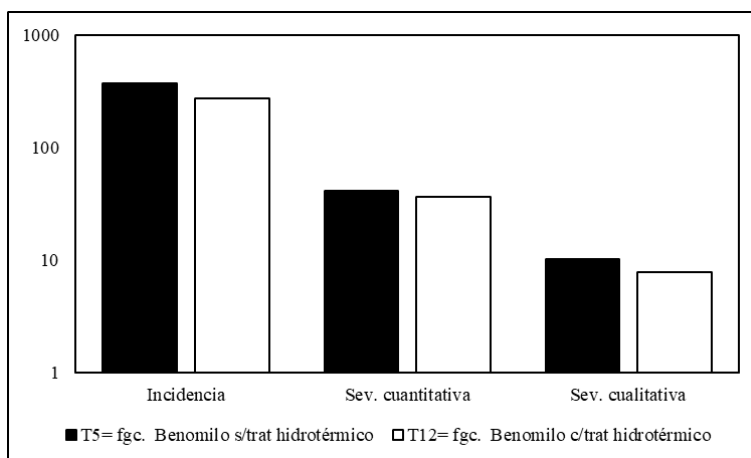


Figura 12. ABCPE de la incidencia, severidad cuantitativa (%) y severidad cualitativa de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) registrada semanalmente en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas con y sin tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno con control químico (Benomil, 4 mg *l⁻¹).

El análisis de varianzas y comparación de medias pudo identificar a árnica y ruda como aquellos extractos con mejores propiedades de control, igualando en algunas variables al agente fungicida (Benomil) que siempre se mantuvo por encima de los demás tratamientos (Cuadros 2 y 3). El cuadro 4 nos permite observar que aun cuando algunos tratamientos por si solos presentaron bajos niveles de control, cuando se adicionó el tratamiento hidrotérmico alcanzaron valores similares a los de ruda y árnica y en algunas variables al Benomil, lo que apoyaría la teoría de presencia de inóculo en la cubierta seminal.

Podemos añadir que, aunque los testigos con inoculación siempre fueron los que mantuvieron

niveles de incidencia y severidad más altos, aquellos testigos sin inoculación los siguieron, esto probablemente a la alta cantidad de inóculo presente en el ambiente; también se destaca que todos los extractos con o sin tratamiento hidrotérmico obtuvieron resultados significativamente mejores que los aquellos sin aplicaciones de control.

Estos resultados son similares a lo reportado por Valenzuela *et al.* (2013) donde en un estudio in vivo realizados sobre frutos de papaya (*Carica papaya* L.) inoculadas con *C. gloeosporioides*, revelaron que los extractos de ajo (11,74 %) y canela a dosis de 0,0054 % aplicada antes y al mismo tiempo de la inoculación, fueron las dosis óptimas para el control (severidad) de la antracnosis.

Cuadro 2. Área bajo la curva del progreso del crecimiento micelial (ABCPE) de la incidencia, severidad cualitativa y severidad cuantitativa de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas sin tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y bajo tratamientos de control químico.

Tratamientos	Incidencia	Sev. cuantitativa		Sev. cualitativa		
T6 = test 1 Con /inoculación	716.67	A	139	A	19.25	A
T1 = Ajo y Clavo	563.89	BA	52	BC	13.91	B
T7 = test 2 Sin /inoculación	558.33	BA	9.7	BA	14.35	BA
T4 = Estafiate	425.00	B	66	BC	11.33	B
T2 = Ruda	405.56	B	43	C	10.58	B
T5 = Benomil	375.00	B	41	C	10.16	B
T3 = Árnica	358.33	B	46	C	9.91	B

*Medias seguidas por letras iguales en las columnas no son significativamente diferentes, prueba de Tukey probabilidad ($p > 0.05$).

Cuadro 3. Área bajo la curva del progreso del crecimiento micelial (ABCPE) de la incidencia, severidad cualitativa y severidad cuantitativa de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas con tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y bajo tratamientos de control químico.

Tratamientos	Incidencia	Sev. cuantitativa		Sev. cualitativa		
T13 = test 1 Con /inoculación	630.56	A	103	A	17.00	A
T14 = test 2 Sin /inoculación	502.78	BA	74	BA	13.58	BA
T11 = Estafiate	413.89	BC	57	BC	11.33	BC
T10 = Arnica	402.78	BCD	53	BC	11.50	BC
T8 = Ajo y Clavo	400.00	BCD	45	BC	10.75	BC
T9 = Ruda	363.89	CD	47	BC	10.25	BC
T12 = Benomil	275	D	36	C	7.75	C

*Medias seguidas por letras iguales en las columnas no son significativamente diferentes, prueba de Tukey probabilidad ($p > 0.05$).

Cuadro 4. Área bajo la curva del progreso del crecimiento micelial (ABCPE) de la incidencia, severidad cualitativa y severidad cuantitativa de mancha chocolate (*Botrytis fabae*) en plantas de haba (*Vicia faba* L.) originadas de semillas con y sin tratamiento hidrotérmico, inoculadas con el patógeno y bajo tratamientos de control químico.

Tratamientos	Incidencia	Sev. cuantitativa		Sev. cualitativa		
T6 = test 1 Con /inoculación	716.67	A	139	A	19.25	A
T13 = test 1 Con /inoculación c/t. hidrotérmico	630.56	BA	103	BA	17.00	BA
T7 = test 2 Sin /inoculación	558.33	BDAC	97	BC	14.35	BAC
T14 = test 2 Sin /inoculación c/t. hidrotérmico	502.78	BDC	74	BDC	13.58	BC
T4 = Estafiate	425.00	DEC	66	BDC	11.33	DC
T11 = Estafiate c/t. hidrotérmico	413.89	DEC	57	BDC	11.33	DC
T10 = Arnica c/t. hidrotérmico	402.78	DEC	53	DC	11.50	DC
T1 = Ajo y Clavo	563.89	BAC	52	DC	13.91	BAC
T9 = Ruda c/t. hidrotérmico	363.89	DEC	47	D	10.25	DC
T3 = Arnica	358.33	DE	46	D	9.91	DC
T8 = Ajo y Clavo c/t. hidrotérmico	400.00	DEC	45	D	10.75	DC
T2 = Ruda	405.56	DEC	43	D	10.58	DC
T5 = Benomil	375	DE	41	D	10.16	DC
T12 = Benomil c/t. hidrotérmico	275	E	36	D	7.75	D

*Medias seguidas por letras iguales en las columnas no son significativamente diferentes, prueba de Tukey probabilidad ($p > 0.05$).

De igual forma, Daniel *et al.* (2015), probaron la actividad antifúngica de extractos de ajo aplicados directamente y a través de la liberación volátil contra el crecimiento de patógenos de post-cosecha *Botrytis cinerea* Pers., *Penicillium expansum* Link y *Neofabraea alba* (E.J. Guthrie) Verkley, donde el crecimiento micelial de *B. cinerea* y *P. expansum* fue inhibido por diluciones acuosas y con etanol en medios modificados con extracto de ajo (método directo) mientras que, la aplicación volátil de vapor de ajo fue capaz de inhibir el dicho crecimiento micelial y germinación de esporas de todos los patógenos en concentraciones tan bajas como 20 %.

Nuestros resultados son parcialmente congruentes con lo encontrado en el estudio de Baños-Guevara *et al.* (2004), quienes encontraron que, en frutos de papaya almacenados a 25 °C, los extractos de ajo y de eucalipto redujeron la severidad de antracnosis en 45.06 y 41.73%, respectivamente. Las plantas son una fuente invaluable de nuevas moléculas biológicamente activas. Muchas especies botánicas muestran una acción reguladora sobre un gran número de plagas y enfermedades. Este efecto se ha atribuido a la presencia de un grupo de metabolitos secundarios en las diferentes partes de las plantas que les confieren una protección natural; por ello se estudia la posibilidad que sean utilizados en el manejo integrado de plagas y enfermedades (Rodríguez *et al.*, 2000). Entre los compuestos más conocidos se encuentran: flavonoides, fenoles, glicósidos de fenoles, saponinas, etc. (Grayer y Harborne, 1994; Osbourn, 1996; Rodríguez *et al.*, 2000) y la inhibición del crecimiento micelial como la reducción de la incidencia puede estar relacionada con la presencia de algunos de estos metabolitos.

CONCLUSIONES

Pudo confirmarse a *Botrytis fabae* como el patógeno causante de la mancha chocolate del haba. En laboratorio, los extractos de árnica y ruda fueron los que detuvieron mejor el crecimiento. En campo, pudo constatar que el tratamiento hidrotérmico influye en la reducción de incidencia y severidad de la enfermedad, el

análisis de varianzas y comparación de medias identificó a los extractos de árnica y ruda como aquellos extractos con mejores propiedades de control, todos los extractos obtuvieron resultados significativamente mejores a aquellos sin tratamientos de control.

LITERATURA CITADA

- BAÑOS-GUEVARA, P. E., ZAVALETA-MEJÍA, E., COLINAS-LEÓN, M. T., LUNA-ROMERO, I. Y J. G. GUTIÉRREZ-ALONSO. 2004. Control biológico de *Colletotrichum gloeosporioides* [(Penz.) Penz. y Sacc.] en papaya maradol roja (*Carica papaya* L.) y fisiología postcosecha de frutos infectados. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(2): 198-205
- BARNETT, H. L. AND B. B. HUNTER. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Third Edition. Macmillan Publishing Company. USA. 218 p.
- BARRON, G. L. 1968. *The genera of Hyphomycetes from soil*. The Williams and Wilkins Co. Baltimore. Canada. 364 p.
- CASTILLO, F., HERNÁNDEZ, D., GALLEGOS, G., MÉNDEZ, M., RODRÍGUEZ, R., REYES, A. Y C. N. AGUILAR. 2010. In vitro antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. *Industrial Crops and Products*, 32(3): 324-328.
- COWAN, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4): 564-582.
- DANIEL, C. K., LENNOX, C. L. AND F. A. VRIES. 2015. In-vitro effects of garlic extracts on pathogenic fungi *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* and *Neofabraea alba*. *South African Journal of Science*, 111(7-8): 1-8.
- DAVICINO, R., MATTAR, M. A., CASALI, Y. A., CORREA, S. G., PETTENATI, E. M., Y B. MICALIZZI. (2007). Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Revista peruana de biología*, 14(2): 247-252.
- FAO. 2009. Food and Agriculture Organizations of the United Nations. Disponible en: www.fao.org/fileadmin/user.../1_produccion_organica_de_cultivos_andinos.pdf. (Fecha de consulta: I-2018).
- GARCÍA-CAMARILLO, E. A., QUEZADA-VIAY, M. Y., MORENO-LARA, J., SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, G., MORENO-MARTÍNEZ, E. Y M. C. J. PÉREZ-REYES. 2006. Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y orégano (*Origanum vulgare* L.) y su efecto sobre

- la producción de aflatoxinas en nuez pecanera [*Carya illinoensis* (FA Wangenh) K. Koch]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1): 8–12
- GARCIGLIA, R. S., GÓMEZ, R. L., PACHECO, M. M. Y A. G. CHÁVEZ. 2007. Biotecnología de plantas. *Ciencia Nicolaitia*, 48: 65–78.
- GRAYER, R. J. AND J. B. HARBORNE. 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982–1993. *Phytochemistry*, 37(1): 19–42.
- HANOUNIK, S. B. AND L. D. ROBERTSON. 1988. New sources of resistance in *Vicia faba* to chocolate spot caused by *Botrytis fabae*. *Plant Disease*, 72(8): 696–698.
- http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gob_mx/ResumenProducto.do Accedido en enero de 2018.
- LEWIS-LVEY, M. L. AND S. A. MILLER. 2005. Evaluation of hot water seed treatment for the control of bacterial leaf spot and bacterial canker on fresh market and processing tomatoes. *Acta Horticulture*, 695: 197–2M.
- LÓPEZ-BENÍTEZ, A., LÓPEZ-BETANCOURT, S. R., VÁZQUEZ-BADILLO, M. E., RODRÍGUEZ-HERRERA, S. A., MENDOZA-ELOS, M. Y E. PADRÓN-CORRAL. 2005. Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum schlechtend. f. sp. lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante extractos vegetales acuosos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2): 183–190.
- Medina, A. C., Pérez, G. P. y P. S. Sánchez. 1978. *El cultivo del haba en los valles altos de México*. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro de Investigaciones Agrícolas de la Mesa Central. Circular CIAMEC, 98, 8 p.
- NOVO, R. J., VIGLIANCO, A., Y M. NASSETTA. 1997. Actividad repelente de diferentes extractos vegetales sobre *Tribolium castaneum* (Herbst). *Agriscientia*, 14. 31–36
- OSBOURN, A. E. 1996. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. *Plant Cell*, 8: 1821–1831.
- PARRA-HENAO, G. J., GARCÍA-PAJÓN, C., Y J. M. COTES-TORRES. 2007. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vector del dengue en Colombia. *CES Medicina*, 21(2): 193–203.
- PEDROSO, A. T. R., ARREBATO, M. A. R., BAÑOS, S. B., TRIANA, A. C. Y D. R. GONZÁLEZ. 2012. Actividad antifúngica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento in vitro de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(1): 91–96.
- PÉREZ-PACHECO, R., RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, C., LARA-REYNA, J., MONTES-BELMONT, R. Y G. RAMÍREZ-VALVERDE. 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Acta zoológica mexicana (n. s.)*, 20(1): 141–152.
- RODRÍGUEZ, A. T., MORALES, D. Y M. A. RAMÍREZ. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. *Cultivos tropicales*, 21(2): 79–82.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2017. Atlas Agroalimentario 2016. Disponible en línea: https://nube.siap.gob.mx/gob_mx_publicaciones_siap/pag/2016/AtlasAgroalimentario-2016. (Fecha de acceso: I-2018).
- VALENZUELA, N. L., ÁNGEL, D. N., ORTIZ, D. T., ROSAS, A., SANTOS, M. O. Y O. GARCÍA. 2013. Historial de publicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4(1), 047–062.
- WILSON, C. L., SOLAR, J. M., EL GHAOUTH, A. AND M. E. WISNIEWSKI. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant disease*, 81(2): 204–210.