

Efectividad de fungicidas convencionales y biorracionales sobre *Sclerotinia sclerotiorum* in vitro*

Bio-rational and conventional fungicides effectiveness on in vitro *Sclerotinia sclerotiorum*

Quintín Armando Ayala Armenta¹, Edgardo Cortez Mondaca^{2§}, Miguel Ángel Apodaca Sánchez¹, Víctor Manuel Leal León¹, Fernando Alberto Valenzuela Escoboza¹ y César Arturo Palacios Mondaca¹

¹Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte-UAS. Avenida Japaraqui y Calle 16, Juan José Ríos, Sinaloa. C. P. 81110. (qaaa-4@hotmail.com; apodacasma@yahoo.com.mx; vml159@hotmail.com; alledelfuerte@hotmail.com; cesar_palaciosm@hotmail.com). ²Campo Experimental Valle del Fuerte-INIFAP. Carretera Internacional México-Nogales, km 1619. Juan José Ríos, Sinaloa. C. P. 81110. [§]Autor para correspondencia: cortez.edgardo@inifap.gob.mx.

Resumen

En el norte del estado de Sinaloa el moho blanco, provocado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, es una enfermedad que afecta a las plantas de frijol en cualquiera de las etapas de desarrollo, incluyendo plántulas, plantas maduras y frutos cosechados. Los agricultores comúnmente intentan manejar la enfermedad mediante aspersión de fungicidas, cuya eficacia frecuentemente es baja porque: a) no se utilizan los fungicidas más adecuados; b) son aplicados con una mala cobertura; y c) existe una posible selección de resistencia a estos plaguicidas, entre otras razones. El objetivo del presente trabajo fue determinar la efectividad biológica, *in vitro*, de 10 fungicidas sintéticos convencionales y 10 biorracionales sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, en diferentes concentraciones. Los fungicidas convencionales boscalid+pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, fludioxonil+ciprodinil y prochloraz a todas las dosis probadas fueron los más eficaces contra *S. sclerotiorum*. Los productos biorracionales ácido salicílico, dióxido de hidrógeno, extracto de semilla de toronja, en las dosis probadas y extracto de citronela 1 000 ppm controlaron al hongo en 100%.

Palabras claves: control químico, enfermedad, frijol, moho blanco.

Abstract

In the northern State of Sinaloa white mold, caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, is a disease affecting bean plants at any stage of development, including seedlings, mature plants and harvested fruits. Farmers often try to manage the disease by spraying fungicides, whose efficiency is often low because: a) not the most appropriate fungicides are used; b) are applied with poor coverage; c) there is a possible selection of resistance to these pesticides, among other reasons. The aim of this study was to determine the biological effectiveness, *in vitro*, of 10 conventional synthetic fungicides and 10 bio-rationales on *Sclerotinia sclerotiorum*, in different concentrations. Conventional fungicides pyraclostrobin + boscalid, carbendazim, fluazinam, fludioxonil and ciprodinil + prochloraz at all doses tested were the most effective against *S. sclerotiorum*. Bio-rational products, salicylic acid, hydrogen dioxide, grapefruit seed extract in the doses tested and citronella extract 1 000 ppm controlled the fungus in 100%.

Keywords: beans, chemical control, disease, white mold.

In the State of Sinaloa, Mexico, white mold is a disease affecting bean plants in any stage of development, its incidence and severity varies with the winter moisture and

* Recibido: noviembre de 2014
Aceptado: febrero de 2015

En el estado de Sinaloa, México, el moho blanco es una enfermedad que afecta a las plantas de frijol en cualquiera de las etapas de desarrollo, su incidencia y severidad varía en función de la humedad invernal y de las poblaciones del hongo en el suelo, llega a reducir el rendimiento hasta 75%, de ahí que se le considere la enfermedad fúngica más importante de este cultivo (Apodaca *et al.*, 2011). Los agricultores comúnmente intentan manejar la enfermedad mediante aspersiones de fungicidas convencionales, cuya eficacia frecuentemente es baja porque: a) no se utilizan los ingredientes adecuados; b) son aplicados con una mala cobertura sobre las plantas; y c) y es posible que exista selección de resistencia a estos plaguicidas, entre otras razones. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar la efectividad de fungicidas convencionales y biorracionales contra *S. sclerotiorum in vitro*.

El estudio se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte- UAS, Juan José Ríos, Sinaloa, durante la primavera de 2013.

Aislamiento de *S. sclerotiorum*. Se colectaron plantas de frijol infectadas con moho blanco, en el Valle del Fuerte, Sinaloa. Para aislar al hongo, se cortaron trozos de tejido infectado en el borde de la lesión en los tallos y vainas. El material se desinfectó con hipoclorito de sodio al 5% durante treinta segundos; luego se lavó tres veces con agua destilada estéril y se secó con servilletas de papel esterilizadas. Finalmente cinco trozos de tejido de cada muestra se colocaron en una caja Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA, Bioxon®) y se incubó a 18-20 °C. Con el fin de obtener cultivos puros, a las 24-48 h, del borde de las colonias en crecimiento activo, se cortaron pequeñas porciones de puntas de hifa mediante una aguja esterilizada, mismas que se transfirieron a cajas con PDA. Los aislados purificados se preservaron en tubos de cultivo con PDA a 4-6 °C hasta su utilización en los bioensayos.

Ensayo con fungicidas convencionales. Se evaluaron 10 productos fungicidas (Cuadro 1), que se encuentran registrados por SENASICA-SAGARPA para el control de *S. sclerotiorum* en frijol [com benomyl, boscalid + pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, metil-tiofanato y pyrimethanil, entre otros (Apodaca *et al.*, 2011)] y otros fungicidas comerciales que se utilizan contra hongos del suelo o follaje en diversas especies vegetales. Cada fungicida se evaluó a l menos en dos concentraciones (ppm); boscalid, boscalid + pyraclostrobin y fludioxonil + ciprodinil se evaluaron en tres concentraciones, generándose un total de 23 tratamientos químicos más el testigo agua.

fungus populations in the soil, reduce performance reaches up to 75%, hence it is considered the most important fungal disease of this crop (Apodaca *et al.*, 2011). Farmers try to manage the disease commonly by conventional fungicidal sprays, whose efficiency is often low because: a) the right ingredients are used; b) are applied with a bad coverage of the plants; c) and there may be selection for resistance to these pesticides, among other reasons. Therefore, the objective of this study was to determine the effectiveness of conventional fungicides and bio-racionales vs. *in vitro S. sclerotiorum*.

The study was conducted at the Laboratory of Plant Pathology, College of Agriculture UAS strongly Valley, Juan Jose Rios, Sinaloa, in the spring of 2013.

Isolation of *S. sclerotiorum*. Bean plants infected with white mold were collected, Valle del Fuerte, Sinaloa. To isolate the fungus-infected tissue pieces on the edge of the lesion at the cut stems and pods. The material was disinfected with sodium hypochlorite 5% for thirty seconds; then washed three times with sterile distilled water and dried with sterile paper towels. Finally five pieces of tissue from each sample were placed in a Petri dish with culture medium potato dextrose agar (PDA, Bioxon®) and incubated at 18-20 °C. In order to obtain pure cultures, 24-48 h, the edge of the actively growing colonies, small portions of hyphal tips were cut using a sterile needle, which are being transferred to boxes with PDA. The purified isolates were preserved in culture tubes with PDA at 4-6 °C until use in bioassays.

Test with conventional fungicides. 10 fungicides (Table 1), which are recognized by SENASICA-SAGARPA control were evaluated: *S. sclerotiorum* in bean [com benomyl, boscalid + pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, thiophanate-methyl and pyrimethanil, among others (Apodaca *et al.*, 2011)] and other commercial fungicides used against fungi from the soil or foliage in various plant species. Each fungicide was evaluated a l least two concentrations (ppm); boscalid, pyraclostrobin and boscalid + cyprodinil + fludioxonil were evaluated at three concentrations, generating a total of 23 chemical treatments plus control water.

Randomly selecting an isolate of *S. sclerotiorum*, same as aseptically transferred, the tube with PDA where it was preserved, the centre of plates with PDA. The dishes were incubated at a 18-20 °C for five days. The fungicides were added to the desired concentrations in sterile flasks with fresh PDA when it was approximately 45 °C and

Cuadro 1. Efecto de fungicidas sintéticos convencionales sobre el crecimiento micelial de *S. sclerotiorum* in vitro.
Table 1. Effect of conventional synthetic fungicides on mycelial growth of in vitro *S. sclerotiorum*.

Fungicida	Concentración (ppm i.a.)	$\sqrt{x+0.5}$ radio de la colonia (cm)		
		48 h	96 h	144 h
1. Bicarbonato de potasio	42.50	0.84 bcd	0.93 cd	1.06 cd
	4.25	1.10 ab	1.90 a	1.99 a
2. Boscalid	5.00	0.75 d	0.92 cd	1.19 bc
	0.50	0.75 d	0.89 cd	1.05 cd
	0.25	0.82 cd	0.99 cd	1.21 bc
3. Boscalid + pyraclostrobin	2.520+1.280	0.71 d	0.71 d	0.71 d
	0.252+0.128	0.71 d	0.71 d	0.71 d
	0.0252+0.0128	0.71 d	0.72 d	0.72 d
4. Carbendazim	2.50	0.72 d	0.72 d	0.72 d
	0.25	0.72 d	0.72 d	0.72 d
5. Fluazinam	40.40	0.71 d	0.71 d	0.71 d
	404.00	0.71 d	0.71 d	0.71 d
6. Fludioxonil + ciprodinil	2.7+3.75	0.72 d	0.72 d	0.72 d
	0.25+0.375	0.72 d	0.72 d	0.71 d
	0.025+0.0375	0.71 d	0.71 d	0.71 d
7. Fluoxastrobin	40.00	0.72 d	1.06 c	1.57 ab
	400.00	0.72 d	1.01 c	1.37 bc
8. Kasugamicina	20.00	1.08 abc	1.80 ab	1.99 a
	2.00	1.14 a	1.89 a	1.99 a
9. Octanato de cobre	1 040.00	1.08 abc	1.86 a	1.99 a
	520.00	1.05 abc	1.70 ab	1.99 a
10. Procloraz	42.10	0.71 d	0.71 d	0.72 d
	421.00	0.71 d	0.71 d	0.71 d
11. Testigo	0.00	1.07 abc	1.54 b	1.99 a

1. PHC Mil Stop, Plant Health Care; 2. Cantus, Basf; 3. Cabrio, Basf; 4. Bavistin, Basf; 5. Shogun, Syngenta; 6. Switch, Syngenta; 7. Vigold, Bayer; 8. Kasumin, Arysta; 9. Cueva, Mitsui de Mexico; 10. Sportak, Bayer. 11. Testigo agua. Los datos transformados a raíz cuadrada ($\sqrt{x+0.5}$) antes de análisis. Medias con misma letra en cada columna no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

Se seleccionó al azar un aislado de *S. sclerotiorum*, mismo que en condiciones asépticas se transfirió, del tubo con PDA donde se hallaba preservado, al centro de placas con PDA. Las cajas se incubaron a 18-20 °C durante cinco días. Los fungicidas, se incorporaron a las concentraciones deseadas en matraces con PDA recién esterilizado, cuando éste se hallaba aproximadamente a 45 °C y de inmediato se dispensaron en cajas Petri desechables (8 cm de diámetro) esterilizadas. Enseguida en el centro de cada una de las cajas tratadas, se colocó una rodaja circular de 1 cm de diámetro de PDA-hongo. El testigo se estableció en PDA sin fungicida.

immediately dispensed into disposable Petri boxes (8 cm diameter) sterilized. Immediately in the centre of each of the treated cases, a circular diameter of 1 cm-PDA was placed slice fungus. The control was established in PDA without fungicide.

Completely randomized design was used; the experimental unit consisted of a Petri dish seeded with fungus. The effect of treatments was assessed at 48, 96 and 144 h, measuring the radius of the fungus colony on the five replicates of each treatment.

Se utilizó un diseño completamente al azar; la unidad experimental consistió de una caja Petri sembrada con el hongo. El efecto de los tratamientos se evaluó a las 48, 96 y 144 h, midiendo el radio de la colonia del hongo en las cinco repeticiones de cada tratamiento.

Ensayo con fungicidas biorracionales. Se probaron 10 ingredientes (Cuadro 2), de los que se desconocía su toxicidad hacia *S. sclerotiorum*. El ensayo se estableció de manera similar a la descrita para los fungicidas sintéticos, pero en este caso se incubó a 14-16 °C; se utilizaron tres repeticiones por tratamiento, y el efecto de los tratamientos se evaluó a las 48, 96 y 240 h.

Bio-rational fungicides trial. 10 ingredients (Table 2) were tested for their toxicity was unknown to *S. sclerotiorum*. The trial was conducted similar to that described for the synthetic fungicides way, but in this case was incubated at 14-16 °C; three replicates per treatment, and the effect of treatments was assessed at 48, 96 and 240 h.

Data obtained from within the colony, were transformed to square root to homogenize the variances (Little and Hills, 1989); then subjected to an ANOVA and arithmetic means were compared by Tukey test ($p = 0.05$) through the SAS software, version 9.0 (2002).

Cuadro 2. Efecto de fungicidas biorracionales sobre el crecimiento micelial de *S. sclerotiorum* in vitro.

Table 2. Effect of bio-rational fungicides on mycelial growth of *S. sclerotiorum* in vitro.

Fungicida	Concentración (ppm i.a.)	$\sqrt{x+0.5}$ radio de la colonia (cm)				
		48 h	72 h	96 h	120 h	240 h
1. Ácido salicílico	500	0.71 d	0.71 c	0.71 f	0.71 e	0.71 b
	1 000	0.71 d	0.71 c	0.71 f	0.71 e	0.71 b
2. <i>Bacillus subtilis</i>	500	0.87 bcd	0.92 bc	0.93 def	1.11 bcde	1.11 b
	1 000	0.79 d	0.85 bc	0.85 ef	1.04 cde	1.04 b
3. Dióxido de hidrógeno	135	0.71 d	0.71 c	0.71 f	0.71 e	0.71 b
	270	0.71 d	0.71 c	0.71 f	0.71 e	0.71 b
4. Extracto ajo	500	0.97 bcd	1.13 b	1.63 ab	2.05 a	2.92a
	1 000	0.71 d	0.71 c	0.71 f	0.71 e	1.45 ab
5. Extracto canela	500	1.17 ab	1.71 a	2.05 a	2.05 a	2.92 a
	1 000	0.71 d	0.84 bc	0.97 cdef	1.11 bcde	1.45 ab
6. Extracto citronela	500	0.71 d	0.95 bc	1.33 bcde	1.79abc	2.92 a
	1 000	0.71 d	0.71 c	0.71 f	0.71 e	0.71 b
7. Extracto clavo	2 500	0.71 d	0.81 bc	0.83 ef	0.83 e	1.58 ab
	5 000	0.71 d	0.91 bc	0.91 ef	0.96 de	1.38 ab
8. Extracto semilla cítricos	50	0.97 bcd	1.16 b	1.53 abcd	1.85 abc	2.92 a
	100	0.84 cd	1.12 bc	1.57 abc	1.68 abcd	2.92 a
9. Extracto semilla cítricos + Quercetina+ CAN	375+142+60	1.16 abc	1.73 a	2.05 a	2.05 a	2.92 a
	750+284+120	1.34 a	1.83 a	2.05 a	2.05 a	2.92 a
10. Extracto semilla toronja	1 000	0.71 d	0.71 c	0.71 f	0.71 e	0.71 b
	1500	0.71 d	0.71 c	0.71 f	0.71 e	0.71 b
11. Testigo	-	1.32 a	1.82a	1.94a	2.05a	2.76 a

1. Compuesto químico; 2. Serenade; 3. Oxidate; 4, 5, 6 y 7. Extractos artesanales. 8. Fractal; 9. Spectra10. Citripower; 11. Testigo agua. CAN= complejo de antibióticos naturales. Los datos se transformaron a raíz cuadrada ($\sqrt{x+0.5}$) antes de su análisis. Medias con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

Los datos obtenidos del radio de la colonia, se transformaron a raíz cuadrada para homogenizar las varianzas (Little y Hills, 1989); después se sometieron a un ANOVA y las medias aritméticas se compararon mediante la prueba de Tukey ($p = 0.05$) a través del programa SAS, versión 9.0 (2002).

Biological effectiveness of conventional fungicides. After 48 h of seeding the fungus, the smaller radius of the colony ($p < 0.0001$) of *S. sclerotiorum* was recorded in the concentrations evaluated boscalid (except 0.25 ppm) + pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, fludioxonil + cyprodinil,

Efectividad biológica de fungicidas convencionales. Después de las 48 h de sembrado el hongo, el menor radio de la colonia ($p < 0.0001$) de *S. sclerotiorum* se registró en las concentraciones evaluadas de boscalid (excepto la de 0.25 ppm) + pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, fludioxonil + ciprodinil, fluoxastrobin y prochloraz. En contraste, los tratamientos con kasugamicina, octanato de cobre y bicarbonato de potasio (dosis baja), fueron similares al testigo (Cuadro 1).

A las 96 y 144 hds boscalid + pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, fludioxonil + ciprodinil y prochloraz, en todas las concentraciones evaluadas, mantuvieron la mayor supresión de la colonia ($p < 0.0001$), tal y como se observó a las 48 hds. El bicarbonato de potasio, 4.25 ppm, así como las dos dosificaciones de kasugamicina y octanato de cobre, permitieron un desarrollo similar o mayor que el testigo. El fluoxastrobin, en las dos concentraciones probadas, y el boscalid (5.0 y 0.5 ppm), con buen efecto de control a las 48 hds, permitieron el crecimiento significativo del micelio del hongo a las 96 y 144 hds (Cuadro 1).

Al final del ensayo, boscalid + pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, fludioxonil + ciprodinil y prochloraz inhibieron en mayor proporción el crecimiento de *S. sclerotiorum*, en todas las concentraciones e intervalos de tiempo probados. Esto corrobora lo encontrado por otros investigadores (Walter *et al.*, 2005; Junior *et al.*, 2008). En otro estudio *in vitro*, el carbendazim a 1 ppm inhibió en 90% el crecimiento micelial del hongo mencionado (Martínez-Pérez, 2008). En tanto en el presente estudio, carbendazim 0.25 ppm redujo significativamente el desarrollo del aislado *S. sclerotiorum* de Sinaloa. El carbendazim ha sido ampliamente utilizado en el norte de Sinaloa. Sin embargo, al igual que otros benzimidazoles, su eficacia disminuye cuando la presión del inóculo es alta y el ambiente es favorable al hongo. En éste sentido, es importante determinar si el uso prolongado de benzimidazoles, por más de 30 años en la región, ha provocado la pérdida de sensibilidad de algunas poblaciones.

La inhibición *in vitro* de *S. sclerotiorum* con fluazinam no es de sorprender ya que este fungicida es uno de los más eficaces contra el moho blanco a dosis de 0.5 L ha⁻¹. En la literatura se reporta una supresión del micelio de este hongo, a concentraciones tan bajas como 0.1, 1 y 10 µL L⁻¹ (Junior *et al.*, 2008).

Desde hace más de 10 años el carbendazim y el fluazinam son ampliamente utilizados contra moho blanco en frijol, en el norte de Sinaloa. En las últimas temporadas los fungicidas

fluoxastrobin and prochloraz. In contrast, treatment with kasugamicin, copper octanoate and potassium bicarbonate (low dose), were similar to the control (Table 1).

At 96 and 144 hds boscalid + pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, cyprodinil + fludioxonil and prochloraz, at all concentrations tested, maintained the greater suppression of the colony ($p < 0.0001$), as was observed at 48 hds. Potassium bicarbonate, 4.25 ppm, and the two dosages of kasugamicin and copper octanoate, allowed a similar or higher than the control development. The fluoxastrobin, at both concentrations tested, and boscalid (5.0 and 0.5 ppm), with good control effect at 48 hds, allowed significant growth of the mycelium of the fungus at 96 and 144 hds (Table 1).

At the end of the trial, boscalid + pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, cyprodinil + fludioxonil and prochloraz inhibited to a larger extent the growth of *S. sclerotiorum*, in all tested concentrations and time intervals. This corroborates the findings of other researchers (Walter *et al.*, 2005; Junior *et al.*, 2008). In another *in vitro* study, the carbendazim at 1 ppm inhibited at 90% the mycelial growth of the fungus mentioned (Martínez-Pérez, 2008). While in the present study, carbendazim 0.25 ppm significantly reduced the development of isolated *S. sclerotiorum* of Sinaloa. Carbendazim has been widely used in northern Sinaloa.

However, like other benzimidazoles, their effectiveness decreases when the inoculum pressure is high and the atmosphere is favourable to the fungus. In this regard, it is important to determine whether prolonged use of benzimidazoles, for over 30 years in the region, has led to the loss of sensitivity of some populations.

The *in vitro* inhibition of *S. sclerotiorum* with fluazinam is not surprising as this fungicide is one of the most effective against white mold at a dose of 0.5 L ha⁻¹. In literature a suppression of the mycelium of this fungus, at concentrations as low as 0.1, 1 and 10 L L⁻¹ is reported (Junior *et al.*, 2008).

For over 10 years, the carbendazim and Fluazinam are widely used against white mold in beans, in northern Sinaloa. In recent seasons the most used fungicide are boscalid + pyraclostrobin; the ciprodonil + fludioxonil and prochloraz new alternatives to chemical control of white mold in beans are represented.

más usados son boscalid + pyraclostrobin; el fludioxonil + ciprodonil y el procloraz se representan nuevas alternativas para el control químico de moho blanco en frijol.

Efectividad biológica de fungicidas biorracionales. A las 24 hds, el crecimiento del hongo fue nulo en todos los tratamientos, excepto en el testigo, cuyo radio de la colonia fue de 4 mm, aunque estadísticamente no hubo diferencia entre los tratamientos.

A las 48 hds, el hongo fue suprimido en 100%, por el ácido salicílico, dióxido de hidrógeno, así como por extractos de citronela, clavo y semilla de toronja en sus dos concentraciones; también con la concentración de 1 000 ppm de los extractos de canela y ajo. En cambio, el extracto de canela 500 ppm y las dos concentraciones de extracto de semilla de cítricos, ESC+quercetina+complejo de antibióticos naturales (CAN), se comportaron de forma similar al testigo (Cuadro 2).

A las 72, 96 y 120 hds, la supresión del hongo se mantuvo con ambas dosificaciones del ácido salicílico, dióxido de hidrógeno, extractos de semilla de toronja y con la concentración de 1 000 ppm de ajo y citronela. Por el contrario, el extracto de canela en concentración de 500 ppm y las dos dosis de ESC+Quercetina+CAN presentaron un crecimiento similar al testigo. También la concentración de 500 ppm del extracto de ajo a los 96 y 120 hds tampoco disminuyó el desarrollo de *S. sclerotiorum* con respecto al testigo (Cuadro 2).

Al finalizar el bioensayo con sustancias biorracionales (240 hds), las dos concentraciones evaluadas de ácido salicílico, dióxido de hidrógeno y extracto de semilla de toronja, así como 1 000 ppm de extracto de citronela mantuvieron un control absoluto del hongo. La eficacia de diferentes tratamientos disminuyó a medida que transcurrió el tiempo. El extracto de ajo y citronela en concentración de 500 ppm, así como el extracto de cítricos y la mezcla extracto de semilla de cítricos ESC+Quercetina+CAN, en sus dos concentraciones, mostraron un desarrollo de la colonia mayor a la del testigo (Cuadro 2).

Estos resultados sugieren que algunos compuestos poseen el potencial de controlar al moho blanco en condiciones de campo. Se sugiere confirmar dicha eficacia evaluando el efecto de diferentes dosis, intervalos de aplicación, entre otros ensayos. También es necesario evaluar el posible efecto fitotóxico. En otro sentido, los extractos de semilla de toronja

Bio-rational biological effectiveness of fungicides. At 24 hds, fungal growth was zero in all treatments, except the control, the radius of the colony was 4 mm, although statistically there was no difference between treatments.

At 48 hds, the fungus was abolished in 100%, salicylic acid, hydrogen dioxide, as well as extracts from citronella, clove and grapefruit seed in two concentrations; also with the concentration of 1000 ppm of cinnamon and garlic extracts. Instead, cinnamon extract and 500 ppm concentrations of both citrus seed extract, ESC + quercetin + natural antibiotic complex (CAN), behaved similarly to the control (Table 2).

At 72, 96 and 120 hds, suppression of the fungus was maintained with both doses of salicylic acid, hydrogen dioxide, grapefruit seed extract and concentration of 1000 ppm of garlic and lemongrass. On the other hand, cinnamon extract concentration of 500 ppm and the two doses of ESC + Quercetin + CAN presented a growth similar to the control. Also, the concentration of 500 ppm of garlic extract at 96 and 120 hds also decreased the development of *S. sclerotiorum* compared with the control (Table 2).

At the end of the bioassay bio-racionales substances (240 hds), the two concentrations tested salicylic acid, hydrogen dioxide and grapefruit seed extract and 1000 ppm citronella extract maintained absolute control of the fungus. The effectiveness of different treatments decreased as the time passed. Garlic extract and citronella concentration of 500 ppm, and citrus extract and extract citrus seed mixture of ESC + Quercetin + CAN, in both concentrations, showed the largest colony development than the control (Table 2).

These results suggest that some compounds have the potential to control the white mold under field conditions. It is suggested to confirm the efficacy evaluating the effect of different doses, application intervals, among other tests. We also need to assess the possible phytotoxic effect. In another sense, grapefruit seed extract and citronella, may also be effective in treating fruits and vegetables after harvest, where *S. sclerotiorum* may be potentially important (Agrios, 2005), since the freshly harvested fruits may present emerging infections, which happened a few days to manifest themselves in severe decay in storage or shelf.

Although, white mold can be controlled with synthetic fungicides, they are expensive, and the negative impact on the environment, there has been encouraged incentivized using bio-racionales substances that can replace short-

y de citronela, podrían también ser efectivos en el tratamiento de frutos y verduras en post-cosecha, en donde *S. sclerotiorum* puede ser potencialmente importante (Agrios, 2005), dado que los frutos recién cosechados pueden presentar infecciones incipientes, que al paso de pocos días se manifiestan en severas pudriciones en el almacén o anaquel.

Aunque el moho blanco se puede controlar con fungicidas sintéticos, éstos son costosos, además del impacto negativo al ambiente, de ahí que se haya incentivado el uso de sustancias biorracionales que puedan sustituir a corto plazo a las sustancias químico-sintéticas (Stauffer *et al.*, 2000). Con relación a lo anterior, al ácido salicílico le considera como un activador de los mecanismos de resistencia sistémica adquirida (SAR) por sus siglas en inglés en plantas contra el ataque por patógenos, estrés por frío, radiación UV y estrés osmótico (Conrath *et al.*, 1995), a lo anterior hay que agregar, que a las concentraciones probadas resultó fungitóxico *in vitro*. El dióxido de hidrógeno es un fungicida de contacto y preventivo, cuya acción desinfectante de amplio espectro incluye hongos y bacterias fitopatógenas. Este desinfectante (1000 ppm) controló a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tezontle y solución nutritiva, por lo que tiene potencial de utilizarse en hidroponía contra esta enfermedad (García-Jiménez, 2012). El extracto de semilla de toronja ha demostrado su capacidad *in vitro* para matar o inhibir el crecimiento de una gran cantidad de bacterias potencialmente perjudiciales, hongos, virus y protozoarios parásitos (Trapman, 2004); además de ser un microbicida natural de amplio espectro, es un antioxidante biodegradable, no es tóxico a animales, ni es corrosivo. Finalmente, el aceite esencial de citronela *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle con buen nivel de control de *S. sclerotiorum*, también mostró actividad fumigante sobre los hongos *Aspergillus* spp., *Colletotrichum musae* y *Pyricularia grisea* (Aguar *et al.*, 2014)

Conclusiones

El boscalid+pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, fludioxonil+ciprodinil y prochloraz, fueron los fungicidas sintéticos más eficaces contra *S. sclerotiorum*, en tanto que de los fungicidas biorracionales, el ácido salicílico, el dióxido de hidrógeno, el extracto de citronela y el extracto de semilla de toronja controlaron mejor a *S. sclerotiorum*. Se recomienda validar la efectividad de los fungicidas convencionales sobresalientes y evaluar los productos biorracionales, en condiciones de campo.

term chemical-synthetic substances (Stauffer *et al.*, 2000). With regard to the above, the salicylic acid expressed as an activator of the mechanisms of systemic acquired resistance (SAR) for its acronym in plants against attack by pathogens, cold stress, UV radiation and osmotic stress (Conrath *et al.*, 1995), for this we must add that, at the tested concentrations *in vitro* proved fungitoxic. Hydrogen dioxide is a contact fungicide and preventive, whose broad spectrum disinfectant action includes plant pathogenic fungi and bacteria. This disinfectant (1000 ppm) controlled *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tezontle and nutrient solution, which has the potential to be used in hydroponics against this disease (García-Jiménez, 2012). The grapefruit seed extract has demonstrated its ability *in vitro* to kill or inhibit the growth of a large amount of potentially harmful bacteria, fungi, viruses and protozoan parasites (Trapman, 2004); as well as being a natural microbicide broad spectrum, a biodegradable antioxidant, nontoxic to animals and is not even corrosive. Finally, the essential oil Citronella *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle with good control level *S. sclerotiorum* fumigant also showed activity on *Aspergillus* spp., *Colletotrichum musae* and *Pyricularia grisea* (Aguar *et al.*, 2014)

Conclusions

The boscalid + pyraclostrobin, carbendazim, fluazinam, cyprodinil + fludioxonil and prochloraz were the most effective synthetic fungicides against *S. sclerotiorum*, while the bio-racionales fungicides, salicylic acid, hydrogen dioxide, citronella extract and grapefruit seed extract better controlled *S. sclerotiorum*. It is recommended to validate the effectiveness of conventional fungicides and evaluate outstanding bio-rational products under field conditions.

End of the English version



Literatura citada

- Aguar, R. W. de S.; Ootani, M. A.; Ascencio, S. D.; Ferreira, T. P. S.; Dos Santos, M. M. and Dos Santos, G. R. 2014. Fumigant antifungal activity of *Corymbia citriodora* and *Cymbopogon nardus* essential oils and *Citronellal* against three fungal species. The Scientific World Journal. 2014:1-8.
- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. Edition 5th Academic Press, New York, United States of America. 922 p.

- Alcalá de Marcano, D.; Vargas, N. y Pire, A. 2005. Efecto de extracto vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. Rev. Facultad Agron. 22:315-323.
- Apodaca, S. M. A.; Cortez, M. E. y García, E. J. A. 2011. Enfermedades infecciosas del cultivo de frijol es Sinaloa. Universidad Autónoma de Sinaloa. Colegio de Ciencias Agropecuarias-Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte. Colección Agro Folletos. Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México. 36 p.
- Conrath, U.; Chen, Z.; Ricigliano, J. and Klessig, D. 1995. Two inducers of plant defense responses, 2,6-dichloroisonicotinic acid, and salicylic acid, inhibit catalase activity in tobacco. Proc. Natl. Acad. Sci. 92:7143-7147.
- García-Jiménez, A. 2012. Desinfestación de sustrato y solución nutritiva contaminada con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Tesis de Maestro en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Chapingo, México. 59 p.
- Junior, T. J.; Vieira, R. F.; Rocha, P. R. R.; Bernardes, A.; Costa, E. L.; Carneiro, J. E. S.; Vale, F. X. R. and Zambolim, L. 2008. White mold intensity on common bean in response to plant density, irrigation frequency, grass mulching, *Trichoderma* spp., and fungicide. Summa Phytopathologica. 3:44-48.
- Little, T. M. y Hills, F. J. 1989. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Ed. trillas 2ª edición. México, D. F. 125-143 pp.
- Martínez-Pérez, Z. A. 2008. Algunos aspectos epidemiológicos del moho blanco de la lechuga (*Lactuca sativa*) en dos municipios productores de Cundinamarca. Tesis de Microbiólogo Industrial. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 99 p.
- Sánchez, G. C.; Cruz, M.; Esther, L. M.; Leiva, M. M.; Cruz, M. M.; Alvarado, C. Y.; Acosta, S. M.; Roque, B. y Pérez, M. 2008. Actividad antifúngica del aceite esencial de *Cymbopogon nardus* para el control de *Macrophomina phaseolina*. Centro Agrícola. 35(3):83-86.
- Statistical Analysis System (SAS) Institute. 2002. SAS systems for information delivery for Windows. Release 9.0. Cary, North Caroline. USA.
- Stauffer, B. A.; Orrego, F. A. y Quinojo, J. A. 2000. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. Rev. Ciencia y Tecnología. 1:29-33.
- Trapman, M. 2004. Evaluation of grapefruit seed extract as natural fungicide to control apple scab in organic apple growing. In: Boos, M. (Ed.). Ecofruit - 11th international conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing: proceedings to the Conference from 3th February to 5th February, 2004 at Weinsberg/Germany 202-207. p.
- Walter, M.; Harris-Virgin, P.; Morgan, C.; Stanley, J.; Body-Wilson, K. S. H.; Langford, G. I. and Moore, M. S. 2005. Fungicides for control of flower and berry infections of *Botrytis cinerea* in boysenbery. Crop Protec. 24:625-631.