

***Botrytis cinerea* en el cultivo de *Rosa híbrida* en la zona florícola sur del Estado de México y la evaluación de su sensibilidad *in vitro* a fungicidas**

Rómulo García Velasco. Centro Universitario UAEM Tenancingo.

El género *Botrytis* se encuentra clasificado dentro de los hongos superiores los cuales presentan micelio septado y quitina en la pared celular. Pertenece al orden Moniliales indicando que las esporas asexuales se forman sobre las hifas y se encuentran libres en el ambiente; esta ubicado en la subdivisión Deuteromycotina lo cual se refiere a hongos imperfectos u hongos asexuales (Agrios, 2004).

Clasificación Taxonómica

Fase sexual

Phylum: Ascomycota

Clase: Discomycetes

Orden: Heliales

Familia: Sclerotiniaceae

Género: *Botryotinia* (*Botrytis* anamórfo)

Especie: *Botryotinia fuckeliana* Whetzel (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.)

Fuentes: Kendrick B., 2000; Garcés y Orozco, 2004.

Descripción

El patógeno *Botrytis* spp. produce gran cantidad de micelio gris y varios conidióforos largos y ramificados, cuyas células apicales redondeadas producen racimos de conidios ovoides, unicelulares, incoloros o de color gris. Los conidióforos y los racimos de conidios se asemejan a un racimo de uvas (Romero, 1993). El hongo libera fácilmente sus conidios cuando el clima es húmedo y luego éstos son diseminados por el viento. El hongo a menudo produce esclerocios irregulares, planos, duros y de color negro. Algunas especies producen a veces una fase perfecta del tipo *Sclerotinia*, en la que las ascosporas se forman en un apotecio (Chilvers, 2006).

De acuerdo con Agrios (2004), el patógeno muestra actividad a bajas temperaturas y produce pérdidas considerables en cosechas que se han mantenido almacenadas durante largos periodos, aun cuando las temperaturas estén entre 0 y 10 °C. Las esporas que han germinado rara vez penetran directamente en los tejidos que muestran un crecimiento activo, pero lo hacen en tejidos de la planta a través de heridas o después de que se han desarrollado durante un cierto tiempo y han formado micelio sobre los pétalos de flores senescentes, follaje en decaimiento de las plantas y escamas de bulbos muertos. El género *Botrytis* comprende 22 especies reconocidas y su forma sexual *Botryotinia* comprende 13 especies (Garcés y Orozco, 2004; Staats *et al.*, 2005). Algunas especies de *Botryotinia* son *B. convoluta* (Drayton) Whetzel, *B. allii* (Sawada) Yamamoto, *B. porri* (van Beyma Thoe Kingma) Whetzel, *B. squamosa* Vien.-Bourg. y *B. fuckeliana* (de Bary) Whetzel. Algunas especies de *Botrytis* son *B. aclada* (Fresen.) Yohalem, *B. allii* (Munn) Yohalem, *B. byssoidea* J.C. Walker, *B. porri* Buchw, *B. squamosa* J. C. Walker,

B. tulipae (Lib.) Lind, *B. elliptica* (Berk.) Cooke y *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. (Chilvers, 2006).

***Botrytis cinerea* Pers.:Fr**

Hospederos

Dentro del género *Botrytis* destaca la especie *Botrytis cinerea* ya que es la única especie polífaga, afectando a más de 200 tipos de plantas alrededor del mundo, todas las demás especies son consideradas específicas, con un rango de hospederos estrecho (Staats *et al.*, 2005). Este patógeno puede ser causa de serias pérdidas en especies de cultivo que incluyen hortalizas (tomate, lechuga, calabaza, pimiento, zanahoria, pepino, berenjena, alcachofa, fríjol, etc.), frutales (fresa, uva, manzana, plátano, arándano, naranja, pera, kiwi, etc.) y ornamentales (gerbera, crisantemo, rosa, clavel, gladiola, iris, violeta africana, ciclamen, begonia, dalia, lirio, tulipán, alhelí, entre otras) (Palmucci *et al.*, 1997; Agrios, 2004; Mirzaei *et al.*, 2007).

Fase sexual y asexual

Botrytis cinerea y *Botryotinia fuckeliana* son las fases asexual (anamorfica) y sexual (teleomorfica) respectivamente del ciclo del mismo hongo filamentoso. La fase asexual está constituida por hifas vegetativas, esclerocios y conidios. Los conidióforos son más o menos rectos con una longitud de 2 mm o más, ramificados, a menudo con un pedúnculo y una cabeza de ramificaciones bastante abierta, lisos, de color claro, marrones por abajo y más pálidos cerca del ápice. Las ramas terminales producen conidios lisos, unicelulares, ovales o elipsoidales, de color entre hialino y pardo claro, en conjunto son pardo grisáceo, con medidas promedio de 10 x 7,5 µm aunque con grandes

variaciones. Los esclerocios producidos por este hongo en sustrato natural y en medios de cultivo suelen ser negros y muy variables en cuanto a tamaño (al menos de 3 mm de diámetro). La fase sexual muestra un cuerpo reproductivo, llamado apotecio, que contiene ascosporas en ascas lineales. Los tallos de los apotecios llegan a 3 cm de longitud y a 1-2 mm de grosor; los discos son cóncavos, pardo amarillentos y de hasta 8 mm de diámetro. Las ascas son cilíndricas, las ascosporas elipsoidales o fusiformes, de 9-15 x 4-7 μm , y uninucleadas. No es muy común encontrar la fase sexual del hongo; sin embargo, en algunas regiones como Almería en España, se han producido apotecios en laboratorio en aislamientos procedentes del mismo lugar, esto indica la existencia de ambos grupos de apareamiento solo que por condiciones ambientales desfavorables no es tan común la formación de apotecios (Gómez, 2001).

Características morfológicas de *B. cinerea* en diferentes cultivos.

Las características morfológicas de *B. cinerea* aisladas de diferentes cultivos presentan diferencias mínimas generalmente en el tamaño de conidios, conidióforos y esclerocios; sin embargo, el tamaño generalmente se encuentra bajo un mismo rango. *B. cinerea* aislado del cultivo de fresa presenta conidióforos septados, grandes y gruesos (más o menos 10 μm de diámetro), café oscuros, ramificados en la parte distal, con ápices hinchados y pequeños esterigmas productores de conidios lisos, unicelulares, café claro, de elipsoides a ovoides de 10.8-19.6 x 5.9-9.8 μm (en promedio 13.0-7.4 μm) (Agrios, 2004). *B. cinerea* aislado del cultivo de noche buena presenta colonias de color gris o café grisáceo, conidióforos de 2 mm de longitud en promedio, con un grosor de 16-30 μm ramificados, lisos, de color café en la parte inferior y más pálida en el ápice, los

conidios son elipsoides u ovoides, lisos de color café pálido, de 6-18 x 4-11 μm (en promedio 14-8 μm), frecuentemente con un hilum ligeramente protuberante. La producción, el tamaño y forma de los esclerocios en cultivo y sobre sustratos naturales es variable (Martínez, 2003). *B. cinerea* aislado del cultivo de uva presenta conidióforos rectos de longitud indeterminada ramificados alternativamente con ramificaciones cortas de 10-30 μm de longitud y ápices esféricos gruesos de 8-10 μm de diámetro sobre los cuales se forman pequeños dentículos donde se originan conidios hialinos, lisos unicelulares, individuales (cenizos y en masa son grises) de forma oval o elíptica de 10-12 μm de longitud por 8-10 μm de ancho acomodados en un racimo irregular. Esclerocios negros de forma irregular de 2-4 por 1-3 mm (Rivas *et al.*, 2007). Chilvers y du Toit (2006), mencionan que los conidios de *B. cinerea* aislados de cebolla son menores a 20 μm de largo y 16 μm de ancho, además presentan una rápida producción de esclerocios, medianos, café oscuros y tamaño variable. Garcés y Orozco (2004) mencionan que Morgan estudió 33 aislamientos de *Botrytis cinerea* valiéndose de la taxonomía numérica utilizando 107 características, concluyó que este patógeno es un complejo de razas identificables por características culturales, pero ninguna de ellas lo suficientemente distinta de la otra, como para ubicarla en un nuevo taxón.

Proceso de infección de *B. cinerea*

La infección o inoculación es el proceso mediante el cual un patógeno y su hospedero entran en contacto. En el caso de *B. cinerea* se produce cuando el conidio diseminado entra en contacto con el hospedero; también ocurre, cuando una superficie infestada con

micelio entra en contacto con tejido sano (Benito *et al.*, 2000; Agrios, 2004; Araújo *et al.*, 2005).

Penetración

El conidio, después de haber sido incubado unas horas bajo condiciones favorables a la germinación, se adhiere fuertemente a un sustrato vivo o descompuesto mediante la producción de secreciones, generalmente enzimas (Doss *et al.*, 1995). Una vez adherido penetra directamente al perforar mecánica y/o enzimáticamente la cutícula e indirectamente por heridas o por aberturas naturales principalmente estomas y lenticelas (Latorre, 1986). La penetración mecánica de *B. cinerea* se realiza a través del apresorio que se origina del extremo distal del conidio germinado, el cual penetra directamente la cutícula hasta las células epidermales (Auger, 1988). La penetración de la cutícula, se produce gracias a la producción de enzimas como pectinasas y polygalacturonasas (Verhoeff, 1974). Además, el patógeno produce ácido oxálico que acidifica el tejido de la planta para facilitar la hidrólisis de la pared celular (Van Baarlen *et al.*, 2004).

Infección

La enfermedad puede manifestarse en forma sintomática o latente. La infección sintomática corresponde a la infección común, en la cual el patógeno ha penetrado directamente o por heridas. La infección latente o asintomática es aquella en la que el patógeno ha cesado de estar agresivo temporalmente o permanentemente y los síntomas no están presentes. Según Verhoeff (1974), la infección puede permanecer

latente hasta un punto en el cual el estado agresivo nunca se activa o lo hace muy tarde para afectar gravemente a la planta.

Dispersión

En clima húmedo, *B. cinerea* libera fácilmente sus conidios y éstos son diseminados por el viento (Benito *et al.*, 2000; Tlapal y Mendoza, 2002; Agrios, 2004; Araújo *et al.*, 2005). Según Latorre (1986), la lluvia por el fenómeno de salpicado, tiene también importancia en la liberación y diseminación de los conidios. Al interior del invernadero, los conidios son liberados al ambiente por un mecanismo higroscópico asociado a un cambio rápido en la humedad relativa (Daughtrey y Benson, 2005).

Sobrevivencia

B. cinerea puede sobrevivir como saprófito en un gran número de plantas cultivadas y malezas, o en materia en descomposición (Auger, 1988; Araújo *et al.*, 2005). Los conidios pueden sobrevivir por más de 14 meses en almacenamiento, aunque disminuye su viabilidad (Salinas *et al.*, 1989). Sin embargo, sobre el suelo no son capaces de lograrlo. En el suelo el hongo hiberna en forma de esclerocios producidos sobre restos orgánicos acumulados luego de cosechar las flores, o de micelio que se desarrolla en restos de plantas en proceso de descomposición (Berg y Lentz, 1968; Araújo *et al.*, 2005).

Fuente de inóculo

Daughtrey y Benson (2005), mencionan que los esclerocios de *B. cinerea* pueden sobrevivir entre cinco y nueve meses y ser útiles como fuente primaria de inóculo para la siguiente estación. Prácticas de control de malezas tanto químicas como mecánicas no tienen efecto en su sobrevivencia.

Efecto de los factores ambientales

Temperatura

En el cuadro 1 se muestran las temperaturas óptimas requeridas por *B. cinerea* para sus distintas fases de crecimiento, lo que contribuye a su patogenicidad en invernadero (Jarvis, 1997).

Cuadro 1. Temperaturas óptimas durante el ciclo biológico de *Botrytis cinerea*.

FASE DE DESARROLLO	TEMPERATURA ÓPTIMA (°C)
Crecimiento de micelio	22
Esporulación	15
Germinación de las esporas	20
Crecimiento del tubo de germinación	30
Formación del apresorio	15-28
Formación de esclerocios	11-13
Germinación de esclerocios	22-24

Rioja y colaboradores (2000), en un estudio realizado para evaluar el efecto de la temperatura sobre la germinación de conidios de *B. cinerea* mencionan que la germinación ocurre en un rango de 0 a 30 °C, siendo la temperatura óptima de 20 °C. Rivas y colaboradores (2007), mencionan que en el cultivo de uva para que se establezca

la infección por *B. cinerea*, es necesario reactivar al hongo con 65% de humedad relativa y 20 °C. Tlapal y Mendoza (2002), mencionan que temperaturas de 10-21 °C favorecen el desarrollo de la enfermedad; siendo 18 °C la temperatura óptima; además, señalan que cuando la temperatura durante el día es alta y por la noche desciende entre 16-18 °C y alta humedad relativa se favorece el desarrollo de epidemias, ya que estas son las condiciones ideales para la formación de rocío sobre las flores.

Humedad Relativa

El efecto más importante de la humedad relativa ocurre sobre la germinación de los conidios de los hongos y sobre la penetración del tubo germinativo en el hospedero; también influye la succulencia del hospedero aumentando así su susceptibilidad a ciertos patógenos (Agrios, 2004).

Tlapal y Mendoza (2002), mencionan que la humedad es necesaria para la germinación y penetración, el rocío es ideal para que esto suceda. De acuerdo con Latorre y Rioja (2002), la humedad relativa necesaria para que ocurra la infección por *B. cinerea* debe ser mayor a 90%, lo cual provoca condensaciones debido a la evapotranspiración, esto resulta suficiente para iniciar la germinación e infectar al hospedero. Los eventos de infección en el campo se inician en respuesta a lluvias, lloviznas o presencia de neblinas que condensan sobre el órgano afectado. Cuando no existen gotas de agua libre sobre los pétalos de rosa se necesitan valores alrededor del 93% para la germinación de conidios (Williamson *et al.*, 1995, citado en Williamson *et al.*, 2007). Aunque Romero (1996), menciona que si la humedad es mayor a 85% y la temperatura se encuentra entre 18-25 °C la enfermedad causa graves daños.

***Botrytis cinerea* en el cultivo de *Rosa* sp.**

Una de las enfermedades considerada de mayor importancia en el cultivo de *Rosa* sp. es la ocasionada por *B. cinerea* (Hasek, 1988; Salinger, 1991; Bañon *et al.*, 1993; Romero, 1996; Morandi *et al.*, 2003; Pizano, 2003; Araújo *et al.*, 2005). Este hongo, puede afectar tallos jóvenes y adultos en toda su longitud, cuando el clima es húmedo sus partes enfermas se llenan de una cubierta afelpada pardo grisácea constituida por esporas del mismo, además tiene la característica de que se pueden formar esclerocios sobre los tallos infectados (Romero, 1993; Romero, 1996; Agrios, 2004). Con frecuencia la infección forma un anillo alrededor de la corteza del tallo y éste muere (Sanlinger, 1991). Sin embargo, lo más conocido es el daño que causa a las flores. En los botones florales, con diferentes grados de apertura, aparecen primero, pequeñas manchas rojo-púrpura, posteriormente, el micelio y las estructuras reproductivas del hongo cubren toda la flor observándose en este caso una masa pulverulenta gris. El ataque también suele suceder en cámaras frigoríficas donde se almacena el producto después de la cosecha, de igual manera durante el transporte del mismo (Bañon *et al.*, 1993).

Métodos de control

Control cultural

Para reducir los daños que ocasiona *B. cinerea* en el cultivo de rosa es recomendable cortar y quemar los tallos y flores infectados tan pronto como tiendan a inclinarse, para evitar nuevas infecciones, los tallos que sostienen a las yemas enfermas deben cortarse varios centímetros debajo de éstas (Romero, 1996).

Eliminación a ciertas longitudes de onda de luz

La esporulación de *B. cinerea* ocurre cuando recibe intervalos de luz ultravioleta comprendidos entre 300-420 nm, por el contrario se inhibe la esporulación con intervalos de 430-490 nm., por lo que es posible controlar esta enfermedad cubriendo el invernadero con películas de polietileno, vinilo o fibra de vidrio que absorban la radiación UV e impidan la transmisión de longitudes de onda de luz comprendidas dentro del rango donde esporula el hongo (Jarvis, 1997). Elad (1990), mediante un estudio realizado con polímeros Wilt Pruf, Biofilm y Colfix menciona que se puede reducir la germinación de esporas y el crecimiento del tubo germinativo de *B. cinerea*. Estos polímeros redujeron significativamente el moho gris en aislamientos de chile, frijol, tomate, pepino y pelargonio; en rosa no fue controlado, aparentemente debido a la infección latente. Chilvers y du Toit (2006), mencionan que *B. cinerea* produce abundantes esporas cuando es expuesta a la luz cercana a la ultravioleta, pero produce pocas esporas en la obscuridad; además, mencionan que sellando las cajas con parafilm también se puede inhibir la esporulación.

Control Biológico

El control biológico es una de las principales tácticas del manejo integrado de plagas y enfermedades. Dentro del invernadero, consiste principalmente en el aumento de enemigos naturales (Huerta y Chavarín, 2002). Morandi y colaboradores (2003), sugieren la utilización de *Clonostachys rosea f. rosea* (Link) Schroers, complementado con otras medidas de control para reducir la esporulación del patógeno. En el caso del cultivo de manzano se utiliza *Trichoderma harzianun* para el control de *B. cinerea* (Agrios, 2004).

Control Químico

El control químico es el principal método de control utilizado en campo, en invernaderos y en almacenes, consiste en la utilización de compuestos químicos que son tóxicos para los patógenos (Agrios, 2004). Para controlar el ataque por hongos en el mercado existe una gran cantidad de fungicidas, compuestos químicos, que matan o inhiben el crecimiento de un hongo; estos se clasifican básicamente en tres tipos que son protectores o de contacto, erradicantes y sistémicos (Mendoza, 2002).

Fungicidas de contacto: Son aquellos que se utilizan para prevenir que se desarrolle una enfermedad, ya que su principal función es impedir la germinación de esporas o matar el tubo germinativo del patógeno. La ventaja de utilizar éste tipo de productos es que afectan varios sistemas metabólicos en sus hospederos, por esta razón, no es común que los patógenos desarrollen resistencia hacia este tipo de productos. Algunas desventajas de estos productos es que solo protegen el sitio donde son aplicados y

tienen poco o nulo movimiento o redistribución en las superficies de las plantas, estos fungicidas son ineficaces en infecciones ya establecidas porque solo forman una barrera química superficial externa por lo que deben aplicarse antes de que el patógeno penetre a la planta. Al permanecer sobre la superficie de la planta, están sujetos a la degradación por la luz y ser lavados por la lluvia. Su protección se pierde conforme las partes del vegetal crecen, por lo que se hace necesario un mayor número de aspersiones para no perder la protección (Mendoza, 2002).

Fungicidas erradicantes: Son aquellos que curan una infección ya establecida en el sitio de aplicación. Algunos de estos fungicidas pueden penetrar los tejidos, incluso los tejidos necróticos, sin moverse a otros sitios de la planta (Mendoza, 2002).

Fungicidas sistémicos: Son compuestos capaces de penetrar y moverse dentro de los tejidos de un hospedante vegetal, a través de la ruta de transpiración (xilema) e inhibir el desarrollo del hongo. Evitan el desarrollo de una enfermedad en partes de la planta en el sitio de aplicación y aún en sitios donde no se aplicó el producto, pueden ser protectores o curativos. Las ventajas que presenta este tipo de productos es que pueden proteger brotes nuevos de la planta durante cierto tiempo, se puede retardar la aplicación de estos productos hasta que los síntomas son aparentes, con lo cual se elimina la necesidad de aplicaciones pre-sintomáticas, reducen la cantidad de residuos al usarse menores cantidades, son más antagonistas al patógeno, además no están expuestos a la degradación de los factores ambientales y son más efectivos por su capacidad de penetración y translocación. Sin embargo, la principal desventaja de estos productos es la rapidez con la que aparecen cepas resistentes (Mendoza, 2002).

Principales fungicidas de contacto y sistémicos clasificados por grupo químico para el control de *B. cinerea*.

A. Fungicidas de contacto

a. Etilen Bisditiocarbamatos

Con estos productos inició el desarrollo de los fungicidas (1930-1934) puramente orgánicos; en general, son compuestos que tienen un amplio espectro de acción. Son inhibidores de enzimas, a través de la formación de quelatos (de los metales pesados del fungicida) con la célula fungosa, quelatos que alteran la síntesis de proteínas (enzimas) y el metabolismo; a este grupo pertenece el fungicida Mancozeb (Mendoza, 2002; De Liñan, 2003).

b. Dicarboximidas

A este grupo pertenecen los fungicidas iprodiona, vinclozolin y procymidona, estos inhiben la germinación de esporas y causan hinchamiento y lisis de las ramificaciones hifales (Mendoza, 2002; De Liñan, 2003).

c. Clorobencenos

A este grupo pertenece el fungicida dicloran que no inhibe la germinación de esporas, pero sí inhibe el crecimiento micelial (Mendoza, 2002; De Liñan, 2003).

d. Clorofenoles

Este grupo incluye compuestos fungistáticos que reducen el crecimiento y esporulación de los hongos; aquí se incluye al fungicida clortalonil considerado como uno de los

fungicidas protectores del follaje más eficaz y con amplio espectro de acción (Mendoza, 2002; De Liñan, 2003).

e. Hidroxianilida

El fenhexamid es un fungicida foliar perteneciente a este grupo, tiene una excelente acción protectora, en el caso de *B. cinerea* inhibe la formación del tubo germinativo y el crecimiento del micelio (Mendoza, 2002; De Liñan, 2003).

B. Fungicidas sistémicos

a. Bencimidazoles

Se introdujeron a fines de la década de los sesenta. Son efectivos a dosis bajas contra una amplia diversidad de hongos y por su actividad sistémica tienen un sitio de acción específico lo cual contribuye a su actividad altamente selectiva, además existe movimiento de los productos en las hojas de las plantas, pero en algunos casos no es suficiente para controlar las enfermedades. A este grupo de fungicidas pertenece tiabendazol, benomilo, tiofanato de metilo, carbendazim, entre otros, actúan inhibiendo la división nuclear y celular, al inhibir la síntesis de ácidos nucleicos (Mendoza, 2002; De Liñan, 2003).

b. Triazoles

Es el grupo más grande de inhibidores de la biosíntesis del ergosterol, a éste pertenece el fungicida tebuconazol, se usa en aplicaciones foliares y como tratamiento a las semillas, tiene una amplia gama de acción que incluye royas, cenicillas, manchas

foliares, pudriciones de raíz, carbones, etc., además tiene una pronunciada actividad contra *B. cinerea*, por lo que adquiere particular importancia. El tebuconazol es hábil para penetrar a la planta y, como todos los triazoles, se considera que, al menos, tiene actividad sistémico local (Mendoza, 2002; De Liñan, 2003).

c. Imidazoles

Los derivados imidazoles han demostrado que son los fungicidas más importantes como inhibidores de la biosíntesis del ergosterol. Procloraz es uno de los compuestos más importantes de este grupo, fue introducido en 1977, es un fungicida de amplio espectro, tiene actividad muy marcada contra ascomycetos y hongos imperfectos, se utiliza en aplicaciones foliares, tratamientos de semillas y tratamientos de postcosecha (Mendoza, 2002; De Liñan, 2003).

d. Fenilaminas (Metalaxil-m)

En México, el fungicida más común dentro de este grupo es metalaxyl, altamente activo contra *Pythium*, *Phytophthora*, *Peronospora*, *Pseudoperonospora*, *Plasmopara*, *Bremia*, *Peronosclerospora*, *Sclerospora*, *Sclerophthora* y *Albugo* spp. El metalaxyl es el compuesto más activo, versátil y más ampliamente usado de las fenilaminas; dentro de sus características biológicas se pueden nombrar las siguientes: alta fungitoxicidad inherente, actividad protectora y curativa contra peronosporales, rápida absorción, protege los brotes nuevos, tiene buena persistencia en los tejidos vegetales; lo cual permite ampliar los intervalos de aplicación (Riveros *et al.*, 2000; Mendoza, 2002; De Liñan, 2003).

Cuadro 2. Fungicidas reportados en la literatura para el control de *Botrytis cinerea* en *Rosa* sp.

	Grupo químico	Ingrediente activo	Nombre comercial
Contacto	a. Etilen Bisditiocarbamatos b. Dicarboximidias c. Clorobenzenos d. Clorofenoles e. Hidroxianilida	a. mancozeb b. iprodiona, vinclozolin c. dicloran d. clorotalonil e. fenhexamid	a. Manzate 200 (varios) b. Rovral, Chipco c. Botran d. Bravo, Daconil e. Elevat
Sistémico	a. Bencimidazoles b. Triazoles c. Imidazoles	a. tiabendazol, benomil, tiofanato de metilo, carbendazim b. tebucanazol c. procloraz	a. Tecto 60, Benlate, Cercobin, Delsene, Bavistin b. Folicur c. Sportak

Existen algunos compuestos químicos que pueden ser utilizados como alternativa para inhibir el crecimiento de micelio y la germinación de conidios de *B. cinerea* ellos son el sorbato de potasio, metilparabeno, benzoato de sodio, propilparabeno, ácido ascórbico y algunos activadores de las plantas. La proteína harpin y dióxido de potasio a diferentes concentraciones han mostrando un buen efecto en cepas aisladas de frutos de fresa, comparando con el fungicida iprodiona (Yildirim y Yapici, 2007).

La mayor parte de las estrategias de control utilizadas hasta el momento se han basado en el empleo de agentes químicos. Sin embargo, la utilización de fungicidas es cada vez menos recomendable y más restringida debido a los problemas de contaminación ambiental que de su aplicación se derivan y por la frecuente aparición de cepas resistentes a los fungicidas utilizados (Benito *et al.*, 2000).

Resistencia a fungicidas

Resistencia, insensibilidad o tolerancia son términos que han sido utilizados para referirse a la habilidad desarrollada por un patógeno para sobrevivir en presencia de niveles de fungicida que previamente fueron nocivos o fatales para él. Los patógenos pueden presentar dos tipos de resistencia, resistencia inherente o resistencia adquirida, la primera se refiere a aquella en la que el patógeno nunca ha sido sensible a un fungicida en particular, la segunda, se refiere a la resistencia que se desarrolla en una población de un patógeno que alguna vez fue sensible (Forbes, 2001).

De acuerdo con Jarvis (1997), el uso reiterado de un único pesticida en un monocultivo ejerce una intensa presión selectiva de los organismos resistentes al pesticida que produce una rápida y total pérdida de eficacia, lo que ha sucedido con el benomilo y el metalaxil.

Se considera que la resistencia de *B. cinerea* a los fungicidas es el resultado de la presión selectiva llevada a cabo sobre las razas resistentes anteriormente presentes en la naturaleza. Una vez adquirida la resistencia, es un factor heredable *B. cinerea* es un heterocarion que contiene genes resistentes a los pesticidas en núcleos de tipo silvestre y en núcleos con mutante. El incremento de la resistencia y la aptitud de las razas de hongos resistentes a los pesticidas para la supervivencia y para estimular a las enfermedades en pleno campo están interrelacionadas; ambas cosas dependen de la dosis eficaz, persistencia del pesticida y ciclo de vida del patógeno. Una vez que se han presentado razas resistentes, sobreviven la mayor parte de ellas durante largo tiempo y

el riesgo de reavivar poblaciones resistentes mediante el uso renovado de fungicidas ineficaces es muy elevado (Jarvis, 1997).

Los fungicidas que presentan un alto riesgo de resistencia son los benzimidazoles y las acilalaminas; las dicarboximidias son consideradas como poseedoras de una moderada o baja probabilidad de resistencia, quizá relacionada con la forma de acción (Jarvis, 1997). Sin embargo, existen estudios que reportan resistencia de *B. cinerea* hacia estos productos. Myresiotis y colaboradores (2007), reportan en Grecia la resistencia de *B. cinerea* a fungicidas del grupo de benzimidazoles y dicarboximidias en un 61.8% y 18% respectivamente, las dicarboximidias fueron utilizadas en el mencionado país desde 1977, para 1980 la eficacia de estos productos comenzó a disminuir y aparecieron cepas resistentes a vinclozolin, procymidona, iprodiona, dicloran y benomilo (Panayotakou y Malathrakis, 1983). Otro estudio similar en Venezuela, donde se evaluó la resistencia de *B. cinerea* a los fungicidas myclobutanil, clorotalonil, procloraz, benomilo, azoxystrobin y mancoceb, mostraron que los productos más eficaces en la inhibición del crecimiento micelial fueron en primer lugar procloraz y myclobutanil; en segundo, clorotalonil y mancoceb y en tercero benomilo y azoxystrobin; aunque, clorotalonil, procloraz y benomilo inhibieron totalmente la producción de conidios (Carrero *et al.*, 2003). En Israel se reportan cepas de *B. cinerea* resistentes a dicarboximidias en el cultivo de pepino, mostrándose sensibles durante el invierno (Katan y Ovadia, 2008). En China se han encontrado cepas de *B. cinerea* en cultivos de fresa, resistentes al fungicida iprodiona (Dicarboximida), estudios moleculares han mostrando que estas cepas han mutado a nivel de aminoácidos, lo que hace a la población resistente (Qian *et al.*, 2007).

Estado actual de *Botrytis cinerea* en la zona florícola sur del Estado de México

De un total de 15 cepas del patógeno aislado de botones flores de rosa colectadas en los municipios de Tenancingo, Villa Guerrero y Coatepec Harinas (cinco por municipio), presentaron las siguientes características; sobre los pétalos de las flores inicialmente se formaron pequeñas manchas blanquecinas que posteriormente incrementaron su tamaño y se tornaron color marrón, sobre estas manchas se formó abundante micelio gris (Figura 1).



Figura 1. a y b) Rosas infectadas por *B. cinerea*. c y d) abundante micelio gris (micelio, conidióforos y conidios de *B. cinerea*) sobre pétalos de rosa. e) manchas iniciales color marrón sobre pétalos de rosa ocasionados por *B. cinerea*.

Este micelio cultivado en PDA, creció formando colonias de apariencia variable, algunas con anillos concéntricos, otras con apariencias algodonosa, pulverulenta, verrugosa y algunas con micelio compacto (Figura 2); el micelio fue ramificado, septado, hialino o café; los conidióforos se levantaron directamente del micelio y fueron septados, ramificados dicotómica o tricotómicamente hacia el ápice, presentaron color café más obscuro en la base volviéndose más pálido cerca del ápice; los conidios se encontraron atados a la ámpula por finos dentículos, hialinos o café claro, ovoides o elipsoides, lisos y con una ligera protuberancia o hilum; las dimensiones de los conidios en promedio fueron de 13.4 x 8.1 μ m; 13.0 x 7.7 μ m y 13.2 x 7.9 μ m en cepas de Tenancingo, Villa Guerrero y Coatepec Harinas, respectivamente. Las 15 cepas presentaron esclerocios superficiales y/o hundidos en el medio de cultivo PDA, en su mayoría se formaron alrededor de la caja Petri y también dispersos sobre el medio de cultivo, al inicio de su formación de un aspecto amorfo color pardo-verdoso, pero con la madurez se tornaron negros, su tamaño y forma fue variable.

De acuerdo con estas características morfológicas registradas, la especie corresponde a *Botrytis cinerea* (Hasek, 1988; Salinger, 1991; Bañon *et al.*, 1993; Romero, 1996; Morandi *et al.*, 2002; Pizano, 2003; Martínez, 2003; Araújo *et al.*, 2005; Chilvers y du Toit, 2006; Rivas *et al.*, 2007).

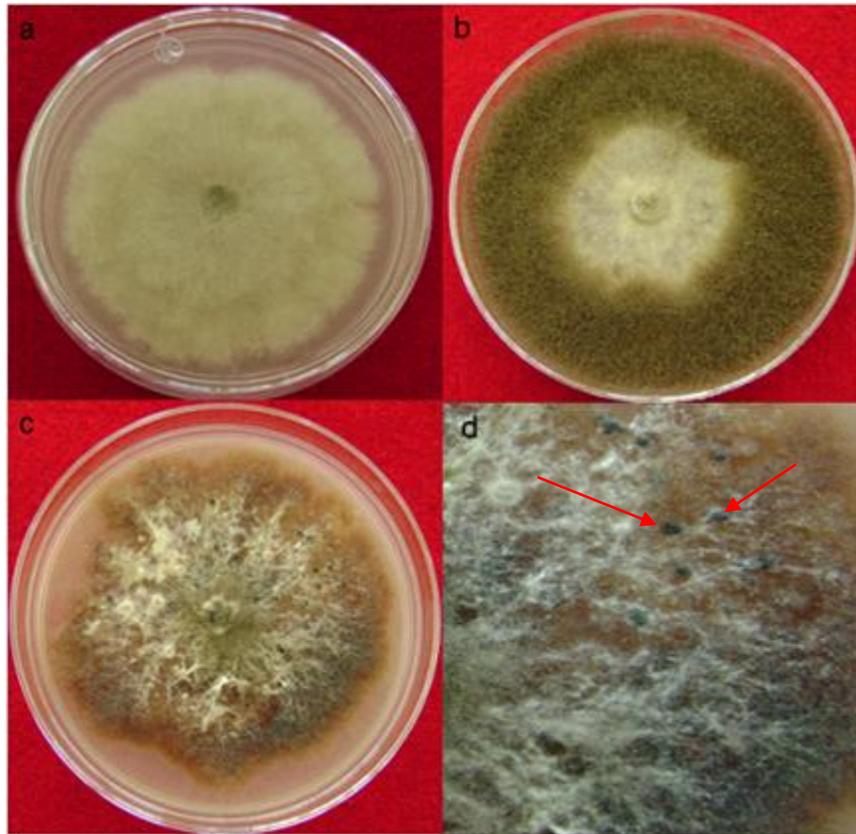


Figura 2. Patrones de crecimiento de cepas de *B. cinerea* sobre PDA. a) micelio compacto, b) apariencia pulverulenta, c) apariencia algodonosa, d) esclerocios de *B. cinerea*.

Pruebas de sensibilidad de *B. cinerea* a fungicidas

De las 15 cepas obtenidas he identificadas taxonómicamente como *B. cinerea*, se les corrió una prueba de sensibilidad *in vitro* a los fungicidas más utilizados para su manejo a la dosis recomendada por el fabricante; esta prueba se corrió para cada municipio de acuerdo a resultados de encuesta a productores.

Los resultados indicaron que las cepas provenientes del municipio de Tenancingo han perdido sensibilidad a tiabendazol a la dosis recomendada por el fabricante de este

producto, ya que el crecimiento del micelio fue evidentemente alto en relación al testigo absoluto, para el caso del fungicida iprodiona tuvo un crecimiento de 8.2 mm considerando el crecimiento real del micelio de 1.2 mm ya que 7 mm corresponde al diámetro del disco del inóculo, para el caso del fungicida procloraz se considera que las cepas aun responden a una buena sensibilidad de la acción fungida de este producto ya que el crecimiento promedio del micelio fue de apenas 0.5 mm (Cuadro 3, Figura 3).

En el municipio de Villa Guerrero el fungicida tiabendazol indica pérdida de sensibilidad hacia *B. cinerea* ya que tubo un crecimiento real de 24.2 mm (31.2 – 7 mm) de micelio en el medio PDA adicionado con el fungicida. Para el caso de los fungicidas iprodiona y procloraz ambos han perdido efectividad a *B. cinerea* aunque en menor grado que tiabendazol, si bien es cierto que estadísticamente son iguales iprodiona y procloraz, biológicamente puede significar mucho esta pequeña diferencia imperceptible por los números, ya que la elevada tasa de producción de conidios puede facilitar la dispersión y colonización de este patógeno provocando nuevas infecciones en el cultivo (Cuadro 3, Figura 3).

Cuadro 3. Comparación de medias del crecimiento micelial *in vitro* de *B. cinerea* evaluando su sensibilidad a los fungicidas mas utilizados para su manejo en tres municipios de la zona florícola sur del Edo. de México .

Municipios					
Tenancingo		Villa Guerrero		Coatepec Harinas	
Fungicida	crecimiento (mm)	Fungicida	crecimiento (mm)	Fungicida	crecimiento (mm)
Testigo	66.8a	Testigo	69.3a	Testigo	55.0a
Tiabendazol	39.5b	Tiabendazol	31.2b	Tiabendazol	46.7a
Iprodiona	8.2c	Iprodiona	15.2c	Clorotalonil	41.7a
Procloraz	7.5c	Procloraz	12.8c	Metalaxil-m	9.8b

Cifras con literales diferentes, son diferentes estadísticamente. Comparación Múltiple de Medias DHS, Tukey P<0.05.
Testigo (Sin fungicida)

Las cepas de *Botrytis cinerea* colectadas en el municipio de Coatepec Harinas indican que han desarrollado la habilidad para sobrevivir en presencia de niveles de fungicida que en algún momento fueron nocivos o fatales para él, de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Así, *B. cinerea* indica que ha perdido sensibilidad a los fungicidas tiabendazol y clorotalonil en mayor grado que Metalaxil-m por lo que aplicar tiabendazol o clorotalonil sería el equivalente a no hacer control de este patógeno ya que el crecimiento micelial es similar al testigo sin fungicida. Sin embargo, el fungicida metalaxil-m aun muestra un considerable nivel de efectividad sobre el patógeno ya que este solo tuvo un crecimiento de micelio real de 2.8 mm (Cuadro 3, Figura 3).

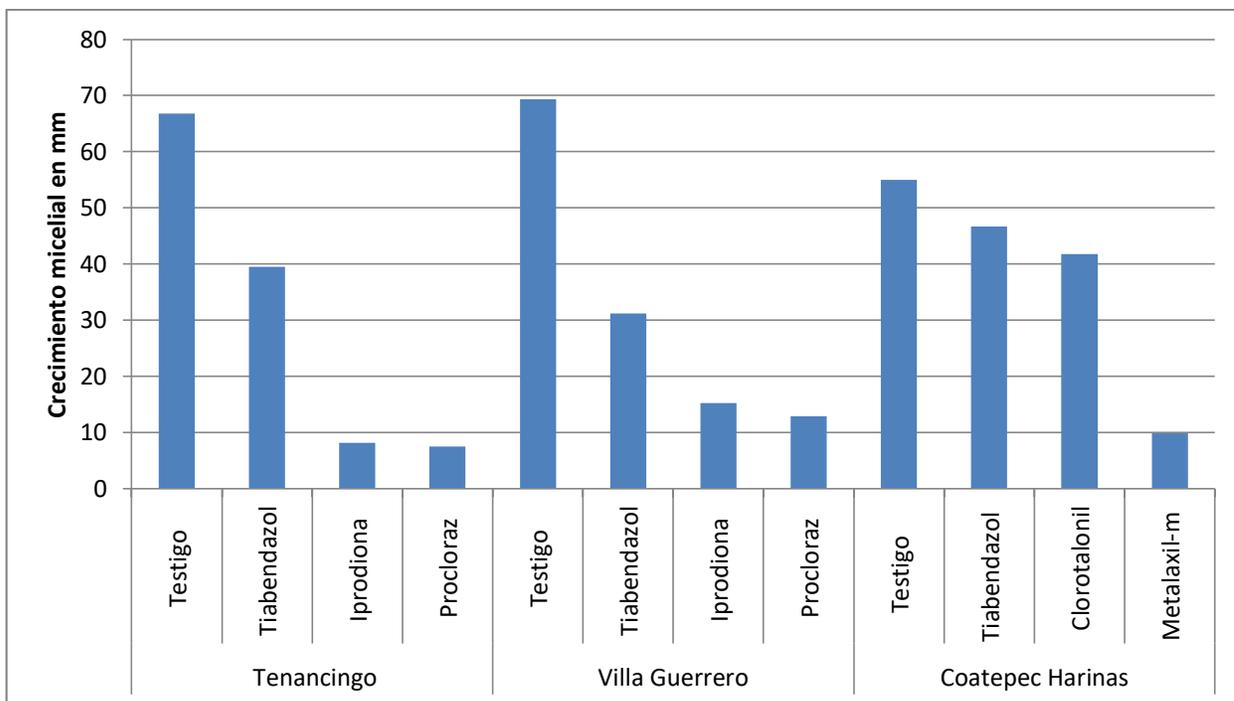


Figura 3. Sensibilidad *in vitro* de cepas de *Botrytis cinerea* a los fungicidas más utilizados para su manejo en *Rosa híbrida* en tres municipios productores del sur del Estado de México.

Discusión

La pudrición café, conocido por los floricultores de la zona sur del Estado de México como “La botritis” es ocasionado por el hongo fitopatogeno *Botrytis cinerea* misma especie que reportan Ponce-González y colaboradores en (2002) aislada de rosa y otras ornamentales como gerbera y gladiolo; especie que es reportada en otros países causando daños en el cultivos de rosa como España, Brasil, Irán y Colombia. En el Estado de México, se encontró, principalmente en los municipios de Tenancingo, Villa Guerrero y Coatepec Harinas, municipios, con mayor superficie cultivada bajo

invernadero de esta ornamental. Sin embargo, seguramente este patógeno se encuentre en todas las zonas productoras de rosa en México.

Para el manejo de la botritis en el cultivo de rosa en los municipios de donde se obtuvieron las cepas, el método más empleado es el control químico; sin embargo, se sabe de forma empírica por los productores que existen fungicidas sin efecto sobre el patógeno, esta hipótesis fue confirmada para el caso del fungicida tiabendazol producto de mayor uso para el control de *B. cinerea*, ya que de acuerdo a los resultados de las 15 cepas de *B. cinerea* evaluadas, muestran pérdida de sensibilidad a tiabendazol a la dosis recomendada, es decir la aplicación de tiabendazol no ejerce ningún efecto fungicida sobre la botritis, lo cual se traduce en una gran inversión económica y contaminación ambiental, sin obtener resultados favorables; resultados de resistencia a este fungicida fueron reportados por Ponce-González y colaboradores desde el año 2002 en diferentes cepas de *B. cinerea* aisladas de rosa, gerbera y gladiolo en el municipio de Villa Guerrero, quienes señalan que *B. cinerea* presenta alto nivel de resistencia a tiabendazol, los mismos autores reportan que el fungicida benomil ha perdido afectividad biológica hacia este patógeno y que se requieren niveles muy altos del ingrediente activo de hasta $18,279.08 \mu\text{g ml}^{-1}$ para tener una CE_{95} ; lo que significa que se requieren 18, 279.08 veces más del ingrediente activo para matar el 95% de la población resistente del patógeno respecto a la cepa sensible. Jarvis (1997), menciona que el grupo químico de los bencimidazoles al cual pertenece el tiabendazol, es el grupo con mayor riesgo de generar resistencia debido a la forma sistémica de actuar, atacando a un solo sitio de acción en el patógeno.

Cepas obtenidas en el municipio de Tenancingo muestran pérdida de sensibilidad al fungicida procloraz, en tanto que las cepas obtenidas de Villa Guerrero aún muestran sensibilidad a este mismo fungicida. Este efecto probablemente está relacionado con el manejo que se le da al patógeno en campo referente a la rotación de grupos químicos de los fungicidas. Además, el hecho de que existan cepas de *B. cinerea* sensibles a procloraz quizás se deba en parte a que es un fungicida relativamente de reciente introducción (1977), comparado con otros grupos de fungicidas, por ejemplo los bencimidazoles que existen desde la década de los sesentas (Mendoza, 2002; De Liñan, 2003); en un estudio de sensibilidad de *B. cinerea* a fungicidas mencionan a procloraz como el fungicida de mayor sensibilidad, inhibiendo completamente el desarrollo del hongo (Carrero *et al.*, 2003).

En Tenancingo y Villa Guerrero existen cepas que han perdido sensibilidad al fungicida iprodiona, pero también existen cepas sensibles al mismo. Iprodiona es un fungicida que pertenece al grupo químico de las dicarboximidazoles, se menciona que este grupo es considerado como poseedor de una moderada o baja probabilidad de resistencia, quizás relacionada con la forma de acción (Jarvis, 1997). Sin embargo, en Grecia se reporta resistencia de *B. cinerea* a las dicarboximidazoles en un 18 % (Myresiotis *et al.*, 2007); considerando que, las dicarboximidazoles fueron utilizadas desde 1977 para el control de *B. cinerea*, sin embargo, durante 1980 la eficacia de estos productos comenzó a disminuir (Panayotakou y Malathrakis, 1983). Katan y Ovadia (2008), mencionan que en Israel se han encontrado cepas de *B. cinerea* resistentes a dicarboximidazoles. Qian y colaboradores (2007), reportan que en China se han encontrado cepas de *B. cinerea* en cultivos de fresa, resistentes al fungicida iprodiona, estudios moleculares en este último caso han

mostrado que las cepas han mutado a nivel de aminoácidos, lo que hace a la población resistente.

En Coatepec Harinas el fungicida metalaxil-m indica tener un buen control para la botritis lo que significa que las cepas aun muestran sensibilidad al tener un crecimiento promedio de micelio de apenas 2.8 mm, aunque este fungicida no aparece registrado para el control de *B. cinerea* en el cultivo de rosa; mas bien, su recomendación esta dirigido al control de *Phytophthora infestans*, *Bremia lactucae*, *Pseudoperonospora cubensis*, entre otros (Mendoza, 2002; De Liñan, 2003). Reportes indican la resistencia de *Phytophthora infestans* a metalaxil-m en el cultivo de papa (Riveros *et al.*, 2000). Por otra parte, se observó que las cinco cepas de esta localidad han perdido sensibilidad a clorotalonil, fungicida considerado como de amplio espectro de acción por tener la característica de ser multicítico.

REFERENCIAS

- Agrios, G. N. 2004. Fitopatología. Limusa. México. 638 p.
- Araújo, A. E., Maffia L. A., Mizubuti E. S. G., Alfenas A. C., Capdeville, G. and Grossi, J. A. S. 2005. Survival of *Botrytis cinerea* as mycellium in rose crop debris and as sclerotia in soil. Fitopatología Brasileira 30: 516-521.
- Auger, J. 1988. El problema de la pudrición gris, *Botrytis cinerea* Pers., en uva. Publicaciones agrícolas. Santiago de Chile. 15: 1-15.
- Bañon, A. S., D. Cifuentes, J. A. Fernández y A. G. Benavente-García. 1993. Gerbera, Liliium, Tulipán y Rosa. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España. 250 p.
- Benito, E. P., M. Arranz y A. P. Eslava. 2000. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. Revista Iberoamericana de Micología 17: 43-46.

- Berg, L. and C. Lentz. 1968. The effect of relative humidity and temperature on survival and growth of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. Canadian Journal of Botany 46: 1477-1481.
- Carrero, C., L. Cedeño, K. Quintero, H. Pino y L. Rodríguez. 2003. Identificación y sensibilidad *in vitro* a fungicidas del agente causal de la podredumbre del tallo en plántulas de *Eucalyptus cinerea* en Mérida, Venezuela. Interciencia 28(11): 656-659.
- Chilvers, M. I. and du Toit, L. J. 2006. Detection and identification of *Botrytis* species associated with neck rot, scape blight, and umbel blight of onion. Disponible en Línea:
<http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/diagnosticguide/2006/onion/>
(Consultado Septiembre 26 de 2008).
- Daughtrey, M. and M. Benson. 2005. Principles of plant health management for ornamental plant. Annual Review of Phytopathology 43: 141-169.
- De Liñan, V. C. 2003. Farmacología Vegetal. Agrotécnicas. Madrid. 1270 p.
- Doss, R. P., S. W. Potter, A. H. Soeldner, J. K. Christian and L. E. Fukunaga. 1995. Adhesion of germlings of *Botrytis cinerea*. Applied and environmental Microbiology 61(1): 260-265.
- Elad, Y., N. Ayish and J. Katan. 1990. Control of grey mould (*Botrytis cinerea*) with film-forming polymers. Plant Pathology 39(2): 249-254.
- Forbes, G. 2001. Resistance to fungicides. Theory and practice. Disponible en Línea:
[http://www.argenpapa.com.ar/img/FUNGICIDAS %20RESISTENCIA.pdf](http://www.argenpapa.com.ar/img/FUNGICIDAS%20RESISTENCIA.pdf).
(Consultado Junio 14 de 2008).
- Garcés de Granada, E. y M. Orozco de Amézquita. 2004. Algunos problemas patológicos y fisiológicos de la floricultura en Colombia. Universidad Nacional de Colombia (Sede Bogotá) Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. 168 p.
- Gómez, V. 2001. La podredumbre gris en los cultivos hortícolas del sudeste español. *Terralia*. 22. Disponible en Línea:
<http://www.terralia.com/articulo.php?recordID=2210#bibliografia>. (Consultado Mayo 17 de 2008).
- Hasek, F. R. 1988. Rosas: Rosas de invernadero. pp. 73-94. *In*: Larson A. R. Introducción a la Floricultura. AGT Editor, S. A. México. 570 p.
- Huerta, P. R. y J. C. Chavarín. 2002. Fungicidas en Ornamentales. pp. 119-147. *In*: Bautista, M. N., J. Alvarado., J. C. Chavarín., H. Sánchez (eds). Manejo

- Fitosanitario de Ornamentales. Instituto de Fitosanidad y Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 237 p.
- Jarvis, W. R. 1997. Control de Enfermedades en Cultivos de Invernadero. España, Mundi-Prensa. 334 p.
- Katan, T. and S. Ovadia. 2008. Effect of chlorothalonil on resistance of *Botrytis cinerea* to dicarboximides in cucumber glasshouses. EPPO Bulletin 15(3): 365-369.
- Kendrick, B. 2000. The Fifth Kingdom, CD-ROM. Sidney-by-the-Sea British Columbia, Canada, V8L 1M8.
- Latorre, B. 1986. Manejo de *Botrytis cinerea* en uva de mesa. Revista Frutícola 7(3): 75-83.
- Latorre, B., M. Rioja. 2002. Efecto de la temperatura y de la humedad relativa sobre la germinación de conidias de *Botrytis cinerea*. Ciencia e Investigación Agraria 2: 67-71.
- Martínez, F. E. 2003. Patogénesis inducida por *Botrytis cinerea* Pers. en dos cultivares de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex Klotzch). Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 67 p.
- Mendoza, Z. C. 2002. Fungicidas en Ornamentales. pp. 119-147. In: Bautista, M. N., J. Alvarado., J. C. Chavarín., H. Sánchez (eds.). Manejo Fitosanitario de Ornamentales. Instituto de Fitosanidad y Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 237 p.
- Mirzaei, S., E. M. Goltapeh and M. Shams-bakhsh. 2007. Taxonomical studies on the genus *Botrytis* in Iran. Journal of Agricultural Technology 3(1): 65-76.
- Morandi, M. A. B., Maffia. L.A., Mizubuti E. S. G., Alfenas, A. C. and Barbosa J. G. 2002. Suppression of *Botrytis cinerea* sporulation by *Clonostachys rosea* on rose debris: a valuable component in Botrytis blight management in commercial greenhouses. Biological Control 26(3): 311-317.
- Myresiotis, C. K., S. Karaoglanidis and K. Tzavella-Klonari. 2007. Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetable crops to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, hydroxyanilide, benzimidazole, and dicarboximide fungicides. Plant Disease 91(4): 407-413.
- Palmucci, H. E., M. C. Rivera y E. R. Wright. 1997. *Botrytis cinerea* Pers. en plantas ornamentales cultivadas en Argentina. Bol. San. Veg. Plagas 23: 295-299.

- Panayotakou, M. and N. E. Malathrakis. 1983. Resistance of *Botrytis cinerea* to dicarboximide fungicides in protected crops. *Annals of Applied Biology* 102(2): 293-299.
- Pizano de Márquez, M. 2003. Investigación Vegetal Aplicada Praktijkonderzoek plant & omgeving. *Cultivo Moderno de la Rosa Bajo Invernadero*. Ediciones Hortitecnia. Bogotá, Colombia. 203 p.
- Ponce-González, F., García-Aguirre, M.G., Lozoya-Saldaña, H. y Herrera-Suarez, T. 2002. Resistencia de *Botrytis cinerea* (Pers.) Fr. a dos fungicidas benzimidazole utilizados en la floricultura. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 8(1): 95-105.
- Qian, L., Y. LeiYan., T. YingFu., K. ZhangLiang., H. WenYing and L. HongYe. 2007. Occurrence of iprodione-resistance *Botrytis cinerea* strain from strawberry in Zhejiang and possible molecular mechanism. *Journal of Fruit Science* 24(3): 344-348.
- Rioja, M., R. G. Finlay and B. Latorre. 2000. Variabilidad en la respuesta a la temperatura de incubación observada en aislamientos de *Botrytis cinerea*. *En: X Congreso de Fitopatología*. Octubre 18-20, 2000. Valdivia, Chile.
- Rivas, S. F., E. J. García., R. S. Mundo., M. I. Osuna y R. B. Sañudo. 2007. Pudrición de racimos de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) en postcosecha: una amenaza latente en Sonora. V Congreso Iberoamericano de Tecnología de Postcosecha y Agroexportaciones. Mayo 29 - junio 1. Cartagena, Murcia, España.
- Riveros, B. F., C. R. Sotomayor y G. B. Espinoza. 2000. Caracterización de una población de *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary en función de su sensibilidad al fungicida metalaxilo y su tipo de apareamiento. *In: X Congreso de Fitopatología*. Octubre 18-20. Valdivia, Chile.
- Romero, C. S. 1993. Hongos Fitopatógenos. México. Universidad Autónoma Chapingo. 347 p.
- Romero, C. S. 1996. Plagas y Enfermedades de Ornamentales. Universidad Autónoma Chapingo. 243 p.
- Salinas, J., D. Glandorf., F. Picavet y K. Verhoeff. 1989. Effects of temperature, relative humidity and age of conidia on the incidence of spotting on gerbera flowers caused by *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology* 10: 133-141.
- Salinger, J. P. 1991. Producción comercial de flores. Acribia, S. A. Zaragoza, España. 371 p.

- Staats, M., P. van Baarlen and J. van Kan. 2005. Molecular Phylogeny of the Plant Pathogenic Genus *Botrytis* and the Evolution of Host Specificity. *Molecular Biology and Evolution* 22(2): 333-346.
- Tlapal, B. B. y C. Mendoza Z. 2002. Enfermedades de origen fungoso en ornamentales. pp 97-118. *In*: Bautista, M. N., J. Alvarado., J. C. Chavarín., H. Sánchez (eds). Manejo Fitosanitario de Ornamentales. Instituto de Fitosanidad y Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 237 p.
- Van Baarlen, P., M. Staats and J. Van Kan. 2004. Induction of programmed cell death in lily by the fungal pathogen *Botrytis elliptica*. *Molecular Plant Pathology* 5(6): 559-574.
- Verhoeff, K. 1974. Latent infections by fungus. *Phytopatology* 12: 99-110.
- Williamson, B., B. Tudzynski, P. Tudzynski and J. A. L. Van Kan. 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology* 8(5): 561-580.
- Yildirim, I. and M. Yapici. 2007. Inhibition of conidia germination and mycelial growth of *Botrytis cinerea* by some alternative chemicals. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10(8): 1294-1300.