

Efecto del extracto acuoso de chañar (*Geoffroea decorticans* Burkart) sobre *Botrytis cinerea*, como posible alternativa para su control durante poscosecha de uva de mesa

Effect of aqueous extract of chañar (*Geoffroea decorticans* Burkart) on *Botrytis cinerea*, as possible alternative for control in post-harvest of table grape

Joana Jaqueline Boiteux ^{1,2}, María Vanda Hapon ^{1,2}, María de los Ángeles Fernández ²,
Gabriela Susana Lucero ^{1,2}, Pablo Humberto Pizzuolo ^{1,2}

Originales: *Recepción*: 28/04/2014 - *Aceptación*: 04/12/2014

RESUMEN

Botrytis cinerea es un hongo parásito, que produce enfermedades destructivas en muchos cultivos y causa daños económicos importantes. En vid produce podredumbre blanda de la baya, disminuyendo rendimientos y calidad de uva, mostos y vino. Para asegurar la calidad, se emplean distintas estrategias. Entre éstas, la aplicación de fungicidas, que pueden producir efectos adversos en el ambiente y dejar residuos que afectan la salud. Los extractos de plantas son un método de control alternativo válido. Los objetivos de este trabajo fueron determinar el efecto biológico del extracto acuoso de chañar sobre la germinación y crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea* y determinar su eficiencia en el control *in vivo*. Para ello se puso en contacto el extracto a distintas concentraciones, con los conidios del patógeno. Para determinar la eficiencia del control *in vivo*, sobre racimos de vid *cv.* Red Globe, se comparó el extracto a distintas concentraciones con dicloran y difusores de dióxido de azufre. De estos estudios, pudo determinarse que el extracto fue capaz de inhibir la germinación y crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea*. En los ensayos *in vivo*, el extracto disminuyó el porcentaje de bayas afectadas por el patógeno.

Palabras claves

vid • poscosecha • podredumbre • extractos vegetales • chañar • *Botrytis cinerea*

1 Cátedra de Fitopatología.

2 Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM CONICET).

Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional de Cuyo. Almirante
Brown 500- Luján, Mendoza. C. P. M5528AHB. jboiteux@fca.uncu.edu.ar

ABSTRACT

Botrytis cinerea is a parasite fungus that causes destructive diseases over several crops and important economic damages. In grapes causes berry softy rots, which decreases both harvest yield and grape, must and wine quality. In order to ensure quality, different controls are used, such as cultural measure and fungicide applications. Last one, presents adverse effects in environment and its residue affect human health. Plant extracts are a valid alternative method. The objectives of this study were to determine the biological effect of aqueous extract of *Geoffroea decorticans* (chañar) on germination and germ tube growth of conidia of *B. cinerea* and to determine its efficiency *in vivo* control. To accomplish the objectives different concentrations of plant extract were tested over conidia of the pathogen. Efficiency of *in vivo* control on bunches of grapes cv. Red Globe was determined for different concentrations of plant extract. Also, control efficiency was compared with the chemical controls dicloran and sulfur dioxide. From these studies it was determined that the chañar extract inhibited germination and germ tube growth of conidia of *B. cinerea*. *In vivo* tests, under preventive treatments with chañar extract showed that the percentage of diseases berries decreases.

Keywords

grape • postharvest • rot • plant extract • chañar • *Botrytis cinerea*

INTRODUCCIÓN

Botrytis cinerea Pers. es un hongo ubicuo que causa podredumbre en un gran número de cultivos hortícolas, frutícolas, florícolas, entre otros (16, 32, 37). Sobre vid, este microorganismo produce la enfermedad denominada "podredumbre gris" o "moho gris", considerada una de las enfermedades de mayor importancia a nivel nacional e internacional (11, 22).

La podredumbre gris afecta principalmente a los racimos de uva, tanto durante el cultivo como en almacenamiento, transporte y comercialización (29). Si bien a campo es donde esta enfermedad produce los mayores daños, durante el período de almacenamiento, en uva destinada a consumo en fresco, también constituye un grave problema. Esta última situación se debe a que durante el almacenamiento, el fruto envejece y los tejidos se debilitan. El producto en este estado es incapaz de soportar la invasión de organismos patógenos, produciéndose la infección.

En una caja de embalaje, es suficiente un racimo enfermo con *B. cinerea* para que contamine al resto y se pierda por completo la fruta. A este problema se suma el hecho que el control de *B. cinerea* es difícil y que durante la etapa de poscosecha, existen pocos productos químicos permitidos. Actualmente, en Argentina, los únicos productos permitidos son: dióxido de azufre (SO₂) (18, 27, 29, 36) y dicloram (10).

El SO₂ si bien posee un excelente control, en varios países del mundo su uso se está restringiendo debido a los residuos que deja en la fruta, peligrosos para la salud humana y el ambiente (2, 6, 31, 32). Además de estos inconvenientes, el producto en sí mismo produce decoloración de bayas y raquis, afectando su calidad (20, 33).

El dicloram, es un fungicida de amplio espectro con acción preventiva y curativa, de Clase Toxicológica IV, lo que significa que normalmente no ofrece peligro.

En la Resolución 507/08 del SENASA, se indica que no se han fijado Límites Máximos de Residuos (LMR) para este producto debido a su poca peligrosidad. En la Unión Europea el LMR para uva es de 0,10 mg Kg⁻¹. Este fungicida puede ser aplicado para el control de podredumbre de los racimos, aunque normalmente el productor cuyano no lo utiliza desde hace muchos años. En consecuencia, ha desaparecido del mercado local (14).

Por lo expuesto, hay una urgente necesidad en encontrar nuevas tecnologías para la protección de la uva de mesa contra la podredumbre gris ocasionada por *B. cinerea* (9). Investigaciones recientes se orientan al uso de plaguicidas naturales (12, 19, 25, 27, 32, 35, 38, 39). Dentro de este grupo, los compuestos de origen vegetal son aquellos que más atención han generado (8).

Existen referencias de extractos vegetales a los cuales se les ha demostrado actividad biológica contra diferentes hongos fitopatógenos (13, 14, 26, 34). Muchos de ellos son usados por la humanidad desde tiempos remotos para curar o aliviar males, por presentar una importante producción de metabolitos secundarios (8). Entre estos se citan *Allium sativum* (1); *Prunus persica* (3); *Juglans nigra*; *Pyrus communis* (34); *Aloe vera* (30); *Satureja hortensis* (7); *Capsicum frutescens* (4); *Lupinus exaltus* (5); *Mentha piperita* (1); *Mangifera indica* (21); *Heliopsis longipes* (24); *Matricaria chamomilla* (15); *Ocimum basilicum* (17).

En Argentina, el chañar (*Geoffroea decorticans* Burkart) es una de las plantas utilizadas en medicina popular por sus virtudes emolientes, balsámicas, expectorantes y antiasmáticas (23, 28). Por consiguiente, el extracto de esta planta podría constituir, en el futuro, una importante fuente de pesticidas biológicos contra hongos fitopatógenos.

Objetivos

Determinar el efecto biológico del extracto acuoso de chañar sobre la germinación y crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea* y determinar la eficiencia del extracto en el control *in vivo* en uvas durante su conservación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislado utilizado

Para los estudios se utilizó un aislado monospórico nativo de *B. cinerea*, obtenido de uvas cv. Chardonnay de Mendoza. Este aislado pertenece a la colección de microorganismos del Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.

Obtención del extracto acuoso de chañar

El material vegetal utilizado fue hojas frescas de poblaciones de chañar del Jardín Botánico de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo (32° 58' latitud sur; 68° 52' longitud oeste y 921 m s. n. m.).

Para la obtención del extracto acuoso se siguió la metodología utilizada por Widmer *et al.* (2006).

Para ello, 20 g de hojas se colocaron en un erlenmeyer de 500 mL con 200 mL de agua destilada.

Posteriormente se autoclavó durante 45 min a 121°C a 1 atm. Inmediatamente se filtró a través de gasa y el extracto se redujo a 20 mL en mechero de Bunsen.

Luego se centrifugó a 5000 rpm durante 15 minutos y el sobrenadante se esterilizó durante 20 min a 121°C y 1 atm.

El extracto obtenido se almacenó a 4°C hasta su uso.

Determinación de la inhibición de la germinación y crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea* con extracto acuoso de chañar

Para determinar el efecto del extracto de chañar sobre la germinación y crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea*, se utilizó la técnica descrita por Chilosi *et al.* (2011). En primer lugar se preparó una suspensión de conidios de *B. cinerea* a una concentración de 1.10^6 conidios.mL⁻¹. Luego se puso en contacto, en las cavidades de portaobjetos escavados (dos cavidades), 2 µL de la suspensión de conidios preparada, con la cantidad de extracto necesario a fin de obtener, en los 10 µL finales, las concentraciones a ensayar (1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 y 80%).

En los testigos se reemplazó el extracto por agua destilada estéril. Cada tratamiento se realizó por triplicado, considerándose una repetición un portaobjeto. Se incubaron en oscuridad a aproximadamente 21°C durante 16 h. Cumplido este período se bloqueó el ensayo con triclorante de Güegüen, y se determinó sobre un total de 100 conidios la cantidad de conidios germinados, midiéndose en estos el largo del tubo mediante el programa aplicativo Axiovision.

Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje medio de inhibición de germinación de conidios y el porcentaje medio de inhibición del crecimiento en largo de tubo germinativo de conidios de *B. cinerea* utilizando la fórmula (*).

Para determinar la concentración del extracto de chañar que inhibiría en un 50 y 95% la germinación de conidios y el crecimiento en largo del tubo germinativo de

conidios de *B. cinerea*, se probaron distintos modelos de ajuste, eligiéndose el que mejor explicó la distribución de los datos.

Para ello se tuvo en cuenta el Cuadrado Medio del Error (CME), Error Estándar (EE) y R² ajustado por grados de libertad (g.l).

Determinación de severidad de *B. cinerea* en racimos de vid inoculados artificialmente con el patógeno, antes y después de ser tratados con extracto de chañar

Los ensayos se realizaron utilizando racimos de uva cv. Red Globe sanas. Para llevar a cabo el ensayo se preparó una suspensión de conidios de *B. cinerea* a una concentración de 1.10^6 conidios.mL⁻¹.

Cada tratamiento fue un racimo de uva colocado dentro de una caja plástica cerrada estéril. Los tratamientos fueron realizados tanto en forma preventiva, como curativa, conforme si los mismos fueron realizados antes o después de la inoculación con la suspensión del patógeno respectivamente.

Para determinar la eficiencia de control se asperjaron los racimos con la suspensión de conidios de *B. cinerea*. Veinticuatro horas antes y/o después de la inoculación se trataron los racimos con tres concentraciones de extracto de chañar (10, 50 y 80%), dicloran al 10% (concentración media registrados en CASAFE para tratamiento pos-cosecha de uva de mesa), generadores de anhídrido sulfuroso y testigos.

Se realizaron tres réplicas por tratamiento. Luego de 7 días de incubación a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ se determinó la severidad de la enfermedad (porcentaje de bayas afectadas).

* $((\bar{x}_{\text{testigo}} - \bar{x}_{\text{tratamiento}}) / \bar{x}_{\text{testigo}}) \cdot 100 = \% \text{ de inhibición}$

Análisis estadístico

Los porcentajes de inhibición del largo de tubo germinativo y de la germinación de conidios, fueron sometidos a análisis de la varianza y las medias separadas mediante test de Tuckey con $\alpha \leq 0,05$. Luego, se confeccionó una curva de inhibición mediante regresión, a fin de determinar la concentración de extracto que inhibiría el 50% (CI₅₀) y 95 % (CI₉₅) de las variables analizadas.

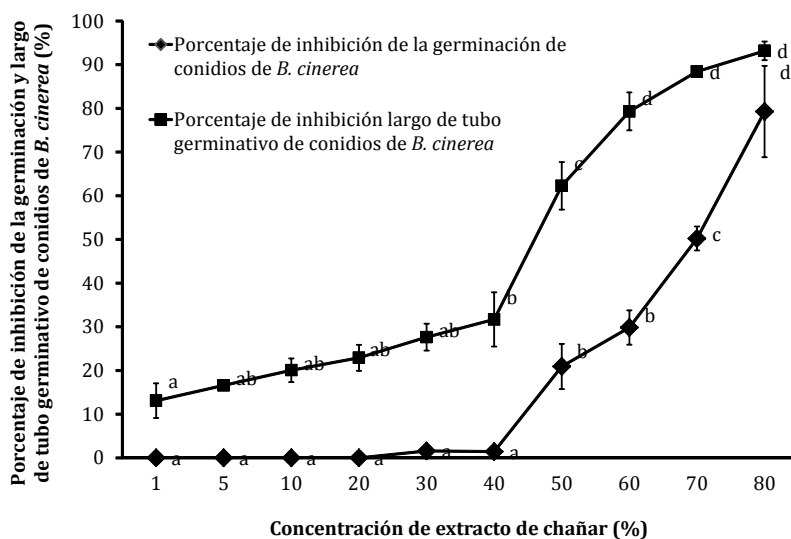
En los ensayos *in vivo*, los datos de severidad fueron analizados mediante ANOVA ($P \leq 0,05$). Posteriormente se confeccionó una curva de severidad.

Los análisis estadísticos se realizaron con los programas InfoStat, Statgraphics Centurion y Graphpad Prism 5.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación del efecto ejercido por el extracto acuoso de chañar sobre la germinación y crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea*

En la figura 1, puede observarse cómo el contacto directo de conidios de *B. cinerea* durante 16 h con el extracto acuoso de chañar al 1%, no disminuyó el porcentaje de germinación de conidios respecto del testigo. Al 50%, produjo un incremento significativo en la inhibición de la germinación, alcanzando aproximadamente el 21%. Al 80% produjo una mayor inhibición alcanzando el 79,3%, diferenciándose estadísticamente del resto de las concentraciones estudiadas.



Letras distintas indican diferencias significativas para test de Tuckey ($p < 0,05$).
 Different letters indicate significant differences for Tukey test ($p < 0,05$).

Figura 1. Porcentaje de inhibición de la germinación y crecimiento del tubo germinativo de conidios de *Botrytis cinerea* a distintas concentraciones de extracto de chañar.

Figure 1. Percentage of germination and germ tube growth inhibition on conidia of *Botrytis cinerea* to different concentrations of chañar extract.

Ensayos realizados por otros investigadores mostraron que extractos al 10% de las especies vegetales *Allium*, *Capsicum*, *Juglans nigra*, *Liquidambar styraciflua*, *Prunus persica*, *Pyrus communis*, *Taxus canadensis*, inhibieron en forma considerable la germinación de conidios de *B. cinerea* (39). En este trabajo se observó un efecto inhibitorio menor del extracto de chañar en comparación con las otras especies vegetales estudiadas. No obstante, no es posible efectuar comparaciones concluyentes ya que en estos trabajos no se especifican los métodos utilizados para realizar las determinaciones, el método de obtención de los extractos e incluso en algunos casos si se trata de un extracto acuoso o alcohólico.

El modelo que mejor se ajustó a la distribución de datos de inhibición de la germinación de conidios fue el no lineal Logístico. El mismo presentó un CME de 22,3; EE de 4,7% y R^2 ajustado de 97,0%. La ecuación que representó al modelo ajustado fue:

$$Y = 125,52 / (1 + 533,25 \text{Exp}(-0,08 * X))$$

Donde:

Y = variable dependiente e indica el porcentaje de inhibición de germinación de conidios de *B. cinerea*.
X = variable independiente e indica la concentración del extracto.

En función de este modelo, se obtuvo que concentraciones de extracto de chañar de 69,1 y 87,4% inhibirían en un 50 y 95% la germinación de conidios de *B. cinerea* respectivamente.

Con respecto al crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea*, en la figura 1 (pág. 245) puede distinguirse cómo los tratamientos con extracto al 1, 5, 10, 20 y 30% no se diferenciaron estadísticamente entre sí, pero estas concentraciones se diferenciaron de las concentraciones mayores. Los tratamientos con concentraciones de extracto comprendidos entre 60 y 80%, no se diferenciaron

significativamente entre sí, alcanzando una inhibición del 87%.

Por su parte, el efecto biológico del extracto acuoso de chañar al 80% sobre el crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea*, ha sido determinado previamente demostrando su capacidad de inhibir el crecimiento del tubo en un 98,5% (25); por lo que los resultados obtenidos en este ensayo son similares a los reportados anteriormente. De acuerdo con esto, es posible inferir que el extracto de chañar al 80% inhibe en más del 80% el crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea*.

El modelo que mejor se ajustó a la distribución de datos de inhibición del crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea* fue el Logístico. El mismo presentó un CME de 56,8; EE de 7,5% y R^2 ajustado de 94,0%. La ecuación que representó al modelo ajustado fue:

$$Y = 119,12 / (1 + 13,12 \text{Exp}(-0,05 * X))$$

Donde:

Y = variable dependiente e indica el porcentaje de inhibición del crecimiento de tubo germinativo.
X = variable independiente e indica la concentración del extracto.

En función de este modelo, se obtuvo que concentraciones de extracto de chañar de 44,4% y 77,6% inhibirían en un 50 y 95% el crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea* respectivamente.

Determinación de la severidad de *B. cinerea* en racimos de vid inoculados artificialmente con el patógeno, antes y después de ser tratados con extracto de chañar

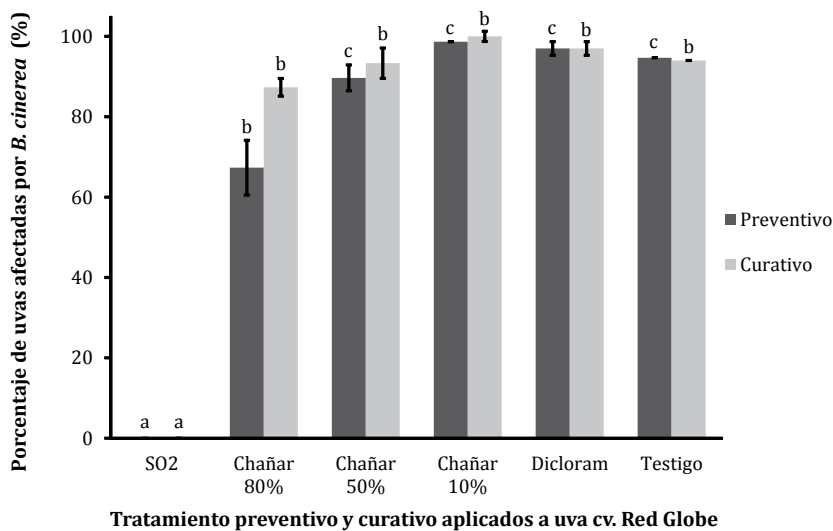
En los ensayos con tratamiento aplicados en forma preventiva, el testigo presentó un porcentaje de bayas afectadas por *B. cinerea* del 95%. En los tratamientos en los que se aplicó dicloram y extracto de chañar al 10 y 50% no presentaron diferencias significativas con respecto

al testigo. El extracto al 80% presentó un porcentaje de bayas afectadas del 67,3%, diferenciándose del resto de los tratamientos. Donde se utilizaron generadores de SO₂ no se observaron bayas afectadas, diferenciándose estadísticamente del resto de los tratamientos y del testigo (figura 2).

En los tratamientos realizados en forma curativa con extracto de chañar y dicloram no se observaron diferencias significativas con respecto al testigo. El testigo presentó un porcentaje de bayas afectadas del 94%. Con generadores de SO₂ no se observaron bayas afectadas, diferenciándose estadísticamente del resto de los tratamientos y del testigo. Cabe señalar que el tratamiento con generadores de SO₂, el cual mostró mayor efectividad tanto en aplicaciones preventivas como curativas,

provocó un importante pardeamiento de bayas y desecación de raquis, afectando las características organolépticas de los racimos de uva (figura 2).

En trabajos anteriores se demostró, que el extracto acuoso de jarilla al 50% aplicado en forma preventiva a racimos de uva cv. Red Globe disminuyó el porcentaje de bayas afectadas por *B. cinerea* en aproximadamente un 19% (20). Además en este trabajo se indicó que los generadores de SO₂ fueron los más eficientes en el control del patógeno, sin embargo afectaron la cosmética de los racimos tratados. De acuerdo con esto, es posible inferir que el uso de extractos vegetales sobre racimos de uva cv. Red Globe, tratados en forma preventiva podría constituir una nueva alternativa para el control poscosecha de *B. cinerea*.



Letras distintas indican diferencias significativas para test de Tuckey ($p < 0,05$).
 Different letters indicate significant differences for Tukey test ($p < 0,05$).

Figura 2. Porcentaje de bayas cv Red Globe afectadas por *Botrytis cinerea* sometidas a diversos tratamientos poscosecha en forma preventiva y curativa.

Figura 2. Percentage of berries cv Red Globe affected by *Botrytis cinerea* under different post-harvest treatments on preventive and curative way.

CONCLUSIONES

El extracto acuoso de chañar a las concentraciones estudiadas inhibió tanto la germinación como el crecimiento del tubo germinativo de conidios de *B. cinerea* registrándose un efecto dosis-dependiente en ambos, siendo mayores las concentraciones para inhibir la germinación de los conidios.

En los ensayos *in vivo*, en particular en los tratamientos preventivos, el extracto de chañar a concentraciones de 50 y 80% inhibió significativamente el porcentaje de bayas afectadas por *B. cinerea*. Para los tratamientos curativos las concentraciones de extracto estudiadas no presentaron una reducción del porcentaje de bayas afectadas por *B. cinerea*.

Por lo mencionado anteriormente, el extracto de chañar permite controlar a *B. cinerea*, tanto *in vitro* como *in vivo*. Además manifiesta un efecto inhibitorio superior al dicloram, por lo menos en las pruebas *in vivo* ensayadas. Estos estudios indicarían que el extracto de chañar podría ser usado para el control preventivo de *B. cinerea* en poscosecha. Sin embargo, se requieren estudios ulteriores para determinar las concentraciones óptimas y tiempo de exposición, a fin de lograr mayor eficacia de control con una mínima o nula alteración de las características organolépticas del producto sobre el cual sea aplicado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Amorim, A. C. L.; Cardoso, M. Das G.; Pinto, J. E. B. P.; Souza, P. E.; Filho, N. D. 2004. Fungitoxic activity avaluation of the hexane and methanol extracts of copaiba plant leaves *Copaifera langsdorffi* Desfon. *Ciência e Agrotecnologia*. 28(2): 316-324.
2. Baños, P. E.; Zavaleta, E. M.; Colinas, M. T.; Luna, I. R.; Gutiérrez J. A. 2004. Control biológico de *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya Maradol Roja (*Carica papaya* L.) y fisiología postcosecha de frutos infectados. *Rev. Mex. Fitopatol.* 22: 198-205.
3. Batistella, M.; Cáceres, E.; Miranda, O.; Parera, C.; Pugliese, F. 2001. Uva de mesa: una alternativa para la diversificación. *IDIA XXI*. 1: 61-65.
4. Bautista, S. L.; Barrera, N. L.; Bravo, L. K.; Bermúdez, T. 2002. Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruits after storage. *Rev. Mex. Fitopatol.* 20: 8-12.
5. Bautista, S.; De Lucca, A.; Wilson, C. L. 2004. Evaluation of the antifungal activity of natural compounds to reduce postharvest blue mould (*Penicillium expansum* Link.) of apples (*Malus domestica* Borkh.) during storage. *Rev. Mex. Fitopatol.* 22: 362-369.
6. Bernal, A.; Zamora, N. J. F.; Virgen, G. C.; Nuño, R. 2005. Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Lupinus* spp. sobre hongos fitopatógenos. *Rev. Mex. Fitopatol.* 23: 140-146.
7. Berry, G.; Aked, J. 1996. Packaging for fresh produce: A case study on table grapes. *Post. News Inf.* 7: 40-44.
8. Boyraz, N.; Ozcan, M. 2006. Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. *International Journal of Food Microbiology*. 107: 238-242.
9. Bryk, H.; Dyki, B.; Sobiczewski, P. 1998. Antagonistic effect of *Erwinia herbicola* on *in vitro* spore germination and germ tube elongation of *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Biocontrol*. 43: 97-106.
10. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223-253.

11. Chilosi, G.; Caruso, C.; Caporale, C.; Leonardi, L.; Bertini, L.; Buzi, A.; Novile, M.; Magro, P.; Buonocore, V. 2000. Antifungal activity of a Bowman birch-type trypsin inhibitor from wheat kernel. *Journal of Phytopathology*. 148: 477-481.
12. Cragolini, C. I.; Viglianco, A. I.; Novo, R. J.; March, G. J. 2009. Principales enfermedades en viñedos de Colonia Caroya, Córdoba. En: Cavallo A., Pasqualini E., Passera C. (Eds.). II° Encuentro Italo Argentino sobre la producción integrada de los cultivos: vides y vinos. Báez Impresiones, Córdoba-Argentina. 29-41.
13. Crisosto, C. H.; Garner, D.; Crisosto, G. 2003. Developing Optimum Controlled Atmosphere Conditions for "Red globe" Table Grapes. Proc. 8th Int. CA Conference. *Acta Horticulturae*. 600: 803-808.
14. Cuchi, N.; Becerra, V. 2009. Manual de Tratamientos Fitosanitarios para cultivos de clima templado bajo riego. Sección III: Vid- Tomo II. 526-527.
15. Ferreira, J. C.; Cardoso, M. G.; Souza, P. E.; Miranda, J. C.; Barreto, S. S. 2005. Inhibitory effect of *Caesalpinia spinosa* leaf let's crude extract on *Fusarium solani* and *Phomatarida* (en línea). *Acta Scientiarum Biological Sciences*. 27(2): 185-188.
16. Ficker, C.; Smith, M.; Akpagana, K.; Gbeassor, M.; Zhang, J.; Durst, T.; Assabgui, R. 2003. Bioassay- guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger. *Phytotherapy Research*. 17: 897-902.
17. Fonseca Rivera, A. 2007. Evaluación y caracterización de la actividad antifúngica de la especie Quillaja Saponaria Mol. cultivada in vitro en *Botrytis cinerea* Pers. Universidad de la frontera, Temuco Chile.
18. Keller, M.; Viret, O.; Cole, F. M. 2001. *Botrytis cinerea* Infection in Grape Flowers: Defense Reaction, Latency, and Disease Expression. *Biochemistry and cell Biology*. 93: 316-322.
19. Kumar, S. A.; Lal, B. 1997. Studies on biofungicidal properties of leaf extracts of some plants. *Indian Phytopathology*. 50(3): 408-411.
20. Lémole, G.; Pizzuolo, P. H.; Lucero, G. S.; Hapon M. V.; Boiteux, J. 2010. Uso del extracto de jarrilla (*Larrea divaricata*) como posible alternativa para el control postcosecha de *Botrytis cinerea* en uva de mesa. XXXIII Congreso argentino de Horticultura, Rosario - Santa Fe del 28 de septiembre al 1 de octubre de 2010. Libro de resúmenes del congreso pág.: 178.
21. Martínez-Romero, D.; Castillo, S.; Valverde, J.M.; Guillén, F.; Valero, D.; Serrano, M. 2003. The use of Natural Aromatic Essential Oils Helps to Maintain Postharvest Quality of "Crimson" Table Grapes. *ISHS Acta Horticulturae* 682: V International Postharvest Symposium.
22. Meng, X.; Li, B.; Liu, J.; Tian, S. 2008. Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chemistry*. 106: 501-508.
23. Negi, P.; Saby, K.; Prasada, U. 2002. Antimicrobial activity of mango sap. *European Food Research and Technology*. 214: 327-330.
24. Pérez Camacho, F. 1992. La uva de mesa. Ediciones Mundi-Prensa. Castelló 37, Madrid. 11-12, 21-23, 41-48, 113, 117-119, 133-134, 139, 174-152 p.
25. Pizzuolo, P.; Lucero, G. S.; Linardelli, C. E.; Tarquini, A.; Hapon, M. V.; Ortega, A. M.; Caretta, A.; Emili, L. H.; Echevarria, S.; Bussetti, E.; Fernández, M. de los A.; Cristiani, M. N.; Valero, S. M.; Speranza, S. 2008. Efecto de distintos extractos vegetales sobre el crecimiento del tubo germinativo de *Botrytis cinerea*. XXI Jornadas de Investigación y III Jornadas de Posgrado de la Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, 1, 2 y 3 de octubre.
26. Quiroga, E. N.; Sampietro, D. A.; Sgariglia, M. A.; Soberón, J. R.; Vattuone, M. A. 2009. Antimycotic activity of 5'-prenylisoflavanones of the plant *Geoffroea decorticans*, against *Aspergillus* species. *International Journal of Food Microbiology*. 132: 42-46.
27. Ramírez Chávez, E.; Valdez, L. L.; Calleros, V. G.; Molina- Torres, J. 2000. Actividad fungicida de la afinina y del extracto crudo de raíces de *Heliopsis longipes* sobre dos especies de *Sclerotium*. *Agrociencia*. 34: 207-217.
28. Retamales, J.; Defilippi, B. G.; Arias, M.; Castillo, P.; Manríquez, D. 2003. High-CO₂ controlled atmospheres reduce decay incidence in Thompson Seedless and Red Globe table grapes. *Postharvest Biology and Technology*. 29(2): 177-182.

29. Ribeiro, L. F.; Bendendo, I. P. 1999. Efeito inibitorio de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*- agente causal da podridão de frutos demamoeiro. *Scientia Agricola* 56(4): 1267-1271.
30. Rivero, M. L.; Quiroga, M. I. 2008. Biofungicida de precosecha: una alternativa al uso del dióxido de azufre en postcosecha de uva de mesa. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, Vol. 9, Núm. 1: 72-80.
31. Roig, F. A. 2002. Flora medicinal mendocina. Las plantas medicinales y aromáticas de la provincia de Mendoza (Argentina). Primera impresión. EDIUNC. Mendoza, Argentina. 11-12, 17, 125 p.
32. Saks, Y.; Barkai, G. 1995. Aloe vera gel activity against plant pathogenic fungi. *Postharv. Biol. Technol.* 6: 159-165.
33. Saligkarias, D.; Gravanis, F. T. B.; Eptona, H. A. S. 2002. Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato plants by the use of epiphytic yeasts *Candida guilliermondii* strains 101 and US 7 and *Candida oleophila* strain I-182: I. in vivo studies. *Biological Control*. 25: 143-150.
34. Sharoni, S.; Dag, A.; Alon, B.; Mohamad, A. T.; Elad, Y. 2006. Honey bee dispersal of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* T39: effectiveness in suppressing *Botrytis cinerea* on strawberry under field conditions. *European Journal of Plant Pathology*. 116: 119-128.
35. Sholberg, P. L.; Reynolds, A. G.; Gaunce, A. P. 1996. Fumigation of Table Grapes with acetic acid to prevent postharvest decay. *Plant Disease*. 80(12): 1425- 1428.
36. Tao Xu, W.; Lun Huang, K.; Guoa, F.; Qua, W.; Jia Yang, J.; Hong Liang, Z.; Bo Luoa, Y. 2007. Postharvest grapefruit seed extract and chitosan treatments of table grapes to control *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*. 46: 86-94.
37. Valencia-Botín, A. J.; Cisneros-López, M. E.; Ruiz-Sánchez, E. 2013. Conidial germination of *Botryosphaeria dothidea* Mough.: Fr (Ces. & De Not.) and histological alterations on stems of pitahaya (*Hylocereus undatus* H.) (Haworth) Britton & Rose. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina*. 45(1): 293-302.
38. Widmer, T. L.; Laurent, N. 2006. Plant extracts containing caffeic acid and rosmarinic acid inhibit zoospore germination of *Phytophthora* spp. pathogenic to *Theobroma cacao*. *European Journal of Plant Pathology*. 115: 377-388.
39. Wilson, C. L.; Solar, J. M.; El Ghaouth, A.; Wisniewski, M. E. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant. Dis.* 81: 204-210.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Técnica y Posgrado de la Universidad Nacional de Cuyo que permitió la realización de este trabajo.