



Resistencia *in vitro* de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP

In vitro resistance of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* to the fungicides Benzomil 500, Rhizolex-T and Homai-WP

Giulliana L. Rubio-Reque¹, Flor de María Baltodano-Sánchez¹, Liliana I. Abanto-Campos¹, Juan H. Wilson-Krugg², Miguel A. Muñoz-Ríos²

RESUMEN

Se determinó la resistencia, expresada en crecimiento, de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* a los fungicidas Benzomyl 500, Rhizolex-T y Homai WP en condiciones de laboratorio. Se realizaron ensayos con tres concentraciones (tres ensayos por cuadruplicado) de Benzomyl (750ppm, 1000ppm y 1250ppm) para *R. solani* y (1500ppm, 2000ppm y 2500ppm) para *F. oxysporum*; concentraciones iguales de Rhizolex-T para ambos hongos (3500ppm, 4000ppm y 4500ppm); y de Homai WP (1500ppm, 2000ppm y 2500ppm) para *R. solani* y (4750ppm, 5000ppm, 5250ppm) para *F. oxysporum*; además del control (0 ppm.). Las evaluaciones se hicieron en placas de Petri con agar Sabouraud, ejecutando cultivos monospóricos para *F. oxysporum*, mientras que *R. solani* fue sembrado por suspensión de hifas, las incubaciones se hicieron a temperatura ambiente durante 12 días y la lectura, midiendo el radio de crecimiento promedio diario.

Se encontró mayor porcentaje de crecimiento de *F. oxysporum* a la concentración de 1500 ppm de Benzomyl 500 (32.78 %), a 3500 ppm de Rhizolex (24.44 %); para *R. solani*, el mayor porcentaje se dio a 750 ppm (9.27 %). Se encontró diferencia estadísticamente significativa en el crecimiento de *F. oxysporum*, confirmando su resistencia a dichos fungicidas, en *R. solani*, en cambio, no fue significativa la diferencia. Se concluye que *F. oxysporum* presenta resistencia a Benzomyl 500 y Rhizolex-T; y *R. solani* es resistente a Benzomyl 500; Homai WP no permitió el crecimiento de *F. oxysporum* y *R. solani*.

Palabras clave: resistencia, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, fungicidas

ABSTRACT

Resistance of *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* to the fungicides Benzomyl 500, Rhizolex-T and Homai WP was determined *in vitro*. Tests were carried out with three different concentrations (three quadruplicated tests) of fungicide Benzomyl (750, 1000 and 1250 ppm) to *R. solani*, and *F. oxysporum* (1500, 2000 and 2500 ppm); Rhizolex-T (3500, 4000 and 4500 ppm) the same for both fungus; and Homai WP (1500, 2000 and 2500 ppm) to *R. solani* and to *F. oxysporum* (4750, 5000, 5250 ppm); also a control (0 ppm.). Resistance was evaluated in Petri plates with Sabouraud agar. One spore of *F. oxysporum* was inoculated in the agar with each fungicide; while *R. solani* was inoculated through suspension of hyphae; which were incubated at environmental temperature during 12 days. Reading for results was made measuring average growing radius daily. The higher percentage of *F. oxysporum* growing was at 1500 ppm concentration of Benzomyl 500 (32.78 %), 24.44 % for 3500 ppm of Rhizolex; while to *R. solani*, the higher percentage was at 750 ppm (9.27 %). The statistical analysis found meaningful difference in the growing measurements of *F. oxysporum*, which confirms its resistance; not for *R. solani*, because of not meaningful difference, showing a resistance beginning. In conclusion, *F. oxysporum* presents resistance to the fungicides Benzomyl 500 and Rhizolex-T, while *R. solani* is just resistant to Benzomyl 500; besides Homai WP has higher inhibitory effect.

Key words: resistance, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, fungicidas

INTRODUCCIÓN

Algunas de las enfermedades más destructivas para los cultivos en distintos países y en la región noroccidental del Perú en particular son ocasionadas por *Rhizoctonia solana*, causante de la denominada costra negra, y *Fusarium oxysporum*, que produce la chupadera fungosa^{1,2}. Estos hongos pueden vivir activamente en el suelo a falta de sus hospedantes, mediante la colonización de la materia orgánica^{3,4}.

R. solani (fase asexual) pertenece a la Clase Hyphomycetes y se caracteriza porque no produce conidias, las hifas son de color marrón oscuro, las células son multinucleadas y presentan una constricción en la base de la célula donde se origina una ramificación⁵; las hifas de este hongo tienen la particularidad de anastomarse, por lo que han sido clasificados en grupos de anastomosis (GA)⁶, cuyos miembros se diferencian entre sí, morfológica, fisiológica y serológicamente⁷ habiéndose conformado ocho grupos de anastomosis de este hongo⁵.

Conocida con los nombres de costra negra (por la presencia de esclerocios en la superficie de los tubérculos afectados) y cancro del tallo (por las lesiones necróticas en los tallos), la infección por *R. solani* es una de las enfermedades que afecta considerablemente la agricultura peruana⁵; los síntomas más comunes que causa en la mayoría de vegetales son el ahogamiento de las plántulas y la pudrición de la raíz, así como la pudrición y la canchrosis del tallo de las plantas adultas y en proceso de crecimiento, así como tizones o manchas en el follaje cuando éste se encuentra cerca del suelo^{1,8}.

El cultivo espárrago, *Asparagus officinalis*, es uno de los más importantes en la región norte del Perú, en particular en los valles de Chao, Virú y Moche por su aporte a la economía de los agricultores; sin embargo, una de las enfermedades que atenta su producción es la denominada "damping off" (chupadera fungosa o marchitez) que tiene como principal agente causal a *F. oxysporum*⁹.

Reconocidas por sus macroconidias fusiformes distintivas, las especies de *F. oxysporum* están ampliamente distribuidas en los suelos y sustratos orgánicos, abunda en suelos cultivados de zonas templadas y tropicales y es el hongo más frecuentemente aislado por los fitopatólogos⁴, el "damping off" puede ser la causa del acortamiento de la vida útil comercial de la planta, a la cual causa: amarillamientos, clorosis, marchitez, retardo en el crecimiento y decoloración de la corona, rizoma y raíces, debido a un colapso y a una completa pudrición radical¹⁰.

El control de los organismos fitopatógenos del suelo es de los más difíciles de lograr; para ello se han desarrollado prácticas culturales, control biológico y control químico, siendo este último, es el más utilizado por ser económico y eficaz en comparación a otras medidas^{11,12}. Su actividad fungitóxica: fungistática o fungicida, depende tanto de su configuración molecular como de la estructura celular del hongo^{13,14,15,16} y su acción inhibitoria depende de la concentración utilizada¹⁷.

Los fungicidas de contacto afectan las estructuras del patógeno en la superficie de la planta, actuando en sus fases de germinación y penetración, aunque si el patógeno ha entrado a la planta estos fungicidas ya no son efectivos^{18,19}; en cambio, los fungicidas sistémicos, se caracterizan por penetrar en la planta y movilizarse acropétamente aún hacia partes en donde no hubo depósitos de la aplicación e incluso actúan en zonas de crecimiento posterior a la aplicación²⁰; pudiendo traslocarse para proporcionar protección interna a ciertos tejidos de la planta²¹, si las lluvias caen, no interfieren en la acción del producto²².

Para el control de *R. solani* y *F. oxysporum* se emplean los fungicidas Benzomyl, Rhizolex-T y Homai WP. Benzomyl, cuyo principio activo es benomilo, es un fungicida sistémico de absorción foliar y radicular, con translocación principalmente acropeta y actividad por contacto preventiva y curativa, actúa sobre la tubulina de las células, al impedir la realización de la mitosis y detiene cualquier tipo de desarrollo quedando el patógeno totalmente impedido para tomar alimento a su alrededor²³.

Rhizolex-T, cuyos principios activos son tolclofos metil y thiram, es un fungicida de contacto con limitado efecto sistémico, de acción preventiva y curativa frente a todos los estadios de desarrollo del hongo²⁴, actúa inhibiendo la biosíntesis de fosfolípidos²⁵. Por su parte, Homai WP, cuyos principios activos son thiram y tiofanate-metil, es un fungicida de contacto y

sistémico, tiene un amplio espectro de control con efecto preventivo y curativo frente a todos los estadios de desarrollo del hongo²⁶, actúa sobre la respiración impidiendo la normal captación del oxígeno por parte de los hongos patógenos²⁷.

Uno de los problemas más graves que ocasiona el uso de fungicidas a nivel mundial es el desarrollo de resistencia en las poblaciones tratadas, fenómeno que tiene graves repercusiones económicas tanto para los agricultores, como para los consumidores de productos vegetales, ocasionando también serios problemas ambientales al incrementar las dosis y/o el número de aplicaciones destinadas a controlar la enfermedad²⁸.

Desde hace algún tiempo, se ha reportado resistencia de diferentes patógenos a fungicidas, siendo uno de los primeros *Phytophthora infestans* como resistente al metalaxil en cultivo de papa²⁹, debido a que tiene acción en sitios específicos del hongo^{30,31}, el cual presenta resistencia poligénica, un tipo de resistencia cualitativa, controlada por muchos genes, los cuales pueden contribuir en mayor o menor grado a la resistencia³². Posteriormente, se nombró a *Fusarium oxysporum* como otro fitopatogeno resistente frente a acibenzolar S-methyl y moderadamente resistente a carbendazim, azoxystrobin, tebuconazole³³ y a *Botrytis cinerea* frente a benomyl, procimidone y thiabendazole, así como, a las anilopyrimidinas (pirimetanol), a boscalid, captan, iprodione y pyrimethanil, lo que confirma el mayor grado de resistencia de esta especie fúngica a diversos fungicidas^{34,35,36}.

La presencia de resistencia es el resultado de una combinación de factores inherentes al químico y al hongo; el riesgo motivado por las condiciones de uso (riesgo agronómico) puede verse alterado por el usuario del producto, mientras que el riesgo inherente se debe a la interacción entre ciertas características del problema a controlar y del producto fitosanitario, y no puede ser cambiado por el modo en que se usa el producto³⁷.

El aporte de agricultores que aplican químicos a las hortalizas una o dos veces por semana, también ha inducido al desarrollo de resistencia, conduciendo a un mayor consumo de estos químicos con el objetivo de evitar mayores pérdidas. Esta resistencia aparece generalmente como respuesta al uso continuo de un mismo fungicida, ésta es heredada dentro de la población de la plaga o patógeno³⁸ como en el caso de rizoctoniasis (costra negra), de aquí se deduce que la resistencia es una habilidad existente en la naturaleza y heredable a algunos individuos dentro de la población de un hongo, lo que les permite sobrevivir a la aplicación de un fungicida que, en condiciones normales, resulta eficaz contra ese hongo³⁹.

La marchitez por *F. oxysporum* y la costra negra por *R. solani* son dos de las enfermedades fúngicas más frecuentes en la Región La Libertad, debido probablemente, a que presentan resistencia, problema que puede pasar desapercibido por los agricultores debido al excesivo uso de fungicidas o a su empleo inadecuado para una determinada enfermedad, en su afán de eliminar rápidamente al fitopatogeno y así evitar pérdidas en su producción. En esta zona, los agricultores emplean principalmente Benzomil 500[®], Homai-WP y Rhizolex-T, considerando que son los más efectivos en la erradicación de marchitez y costra negra y los más conocidos comercialmente. Por ello, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar si *R. solani* y *F. oxysporum* presentan resistencia a los fungicidas antes mencionados, ya que la información obtenida respecto a dicho problema es mínima y es necesario obtener datos controlados científicamente para lograr un control efectivo de estas enfermedades frecuentes que atacan a nuestra región.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hongos y fungicidas

Cultivo de *Fusarium oxysporum* y Cultivo de *Rhizoctonia solani* proporcionado por la Cátedra de Fitopatología del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo y los fungicidas: "Benzomil 500", cuyo principio activo es benomilo; "Rhizolex-T", cuyo principio activo son toclofo-metil y thiram y "Homai WP" cuyo principio activo son thiram y tiofanate-metil obtenidos de centros comerciales.

Evaluación de la resistencia de *R. solani* a los fungicidas Benzomil, Rhizolex-T y Homai WP

- Resiembra del cultivo *R. solani*

- A partir del cultivo de *R. solani* proporcionado se sembró por puntura en la parte central de tubos de ensayo conteniendo Agar-Sabouraud y se incubó a temperatura ambiental por cinco a siete días.
- **Preparación de Medio de Cultivo con las diferentes concentraciones de los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai WP**
- Se preparó 60 mililitros de Agar Sabouraud en cada uno de cuatro matraces, los que se esterilizaron en autoclave y se dejaron enfriar hasta una temperatura aproximada de 45° C. Luego se procedió de la siguiente forma para cada fungicida:
- **Preparación de Agar Sabouraud con las diferentes concentraciones de Benzomil 500**
Estando aún fundido el medio y a una temperatura aproximada de 45° C. A cada uno de tres matraces se le adicionó el fungicida Benzomil 500, en cantidad suficiente para alcanzar las concentraciones de 750, 1000 (concentración de campo), 1250 ppm respectivamente. Al medio de cultivo contenido en el cuarto matraz no se le agregó el fungicida a fin de utilizarlo como control. Posteriormente el medio de cultivo de cada uno de los cuatro matraces se sirvió en placas de Petri estériles (cuatro placas por cada concentración, incluyendo el control).
- **Preparación de agar Sabouraud con las diferentes concentraciones de Rhizolex-T**
Estando aún fundido el medio y a una temperatura aproximada de 45° C. A cada uno de tres matraces se le adicionó el fungicida Rhizolex-T, en cantidad suficiente para alcanzar las concentraciones de 3500, 4000 (concentración de campo), 4500 ppm respectivamente. Al medio de cultivo contenido en el cuarto matraz no se le agregó el fungicida a fin de utilizarlo como control. Posteriormente el medio de cultivo de cada uno de los cuatro matraces se sirvió en placas de Petri estériles (cuatro placas por cada concentración, incluyendo el control).
- **Preparación de agar Sabouraud con las diferentes concentraciones de Homai WP**
Estando aún fundido el medio y a una temperatura aproximada de 45° C. A cada uno de tres matraces se le adicionó el fungicida Homai WP, en cantidad suficiente para alcanzar las concentraciones de 1500, 2000 (concentración de campo) y 2500 ppm respectivamente. Al medio de cultivo contenido en el cuarto matraz no se le agregó el fungicida a fin de utilizarlo como control. Posteriormente el medio de cultivo de cada uno de los cuatro matraces se sirvió en placas de Petri estériles (cuatro placas por cada concentración, incluyendo el control).
- **Preparaciones de las soluciones de Benzomil, Rhizolex-T y Homai WP**
Se llevó a cabo diferentes diluciones Benzomil, Rhizolex-T, Homai WP hasta alcanzar las concentraciones de 750, 1000, 1250; 3500, 4000, 4500; 1500, 2000, 2500 ppm respectivamente, a partir de las muestra originales.
- **Obtención de suspensión de hifas de *R. solani* en las concentraciones de los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai WP³**
Se preparó una suspensión de hifas en agua destilada estéril del cultivo resembrado, a su vez se llevó a cabo diferentes diluciones de Benzomil, Rhizolex-T, Homai WP en agua destilada estéril hasta alcanzar dobles concentraciones a las preparadas anteriormente (1500, 2000, 2500; 7000, 8000, 9000; 3000, 4000, 5000 ppm respectivamente). Luego se colocó 1mL de dilución de Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai WP en tubos de ensayos estériles, a los cuales se les agregó 1mL de la suspensión de hifas obtenida previamente, obteniendo concentraciones finales de 750, 1000, 1250 ppm de Benzomil; 3500, 4000, 4500 ppm de Rhizolex-T y 1500, 2000, 2500 ppm de Homai WP. Se preparó también una suspensión “control” (sin fungicida) y se le agregó 1mL de agua estéril.
- **Siembra de *R. solani* en medio agar Sabouraud con diferentes concentraciones de Benzomil, Rhizolex-T, Homai WP**
Se sembró por superficie de 0,1 mL de dicha suspensión en una placa de Petri conteniendo agar Sabouraud, de acuerdo a cada concentración final tanto de Benzomyl 500, Rhizolex-T y Homai WP, así como de los controles. Con la ayuda de un asa de drigalski se extendió el inóculo en toda la superficie de cada placa, estas placas fueron incubadas a temperatura ambiental durante 24 horas. Luego del tiempo de incubación se procedió a revisar la placa Petri, a fin de ubicar el crecimiento miceliar.

- Tomando una aguja hipodérmica N° 25 (jeringa tuberculina) estéril se procedió a extraer fragmentos de hifas presentes en cada una de las placas con las diferentes concentraciones de Benzomil, Rhizolex-T, Homai WP, las cuales fueron inmediatamente sembradas por puntura en la parte central de las placas petri preparadas previamente de acuerdo a sus correspondientes concentraciones de fungicidas, incluyendo el control y se incubó a temperatura ambiente por doce días.

Evaluación de la Resistencia de *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil, Rhizolex-T y Homai WP

- **Resiembra del cultivo de *Fusarium oxysporum***
A partir del cultivo de *F. oxysporum* se sembró por puntura en la parte central de tubos de ensayo conteniendo Agar Sabouraud y se incubó a temperatura ambiental por cinco a siete días.
- **Preparación de agar Sabouraud con las diferentes concentraciones de los fungicidas Benzomil, Rhizolex-T, Homai WP**
Se preparó 60 mililitros de Agar Sabouraud con los fungicidas a evaluar en cada uno de cuatro matraces, los que fueron esterilizados en autoclave y se dejó enfriar hasta una temperatura aproximada de 45° C. Luego se procedió de la siguiente forma para cada fungicida:
 - **Preparación de agar Sabouraud con las diferentes concentraciones de Benzomil**
Estando aún fundido el medio a una temperatura aproximada de 45° C, a cada uno de tres matraces se le adicionó el fungicida Benzomil, en cantidad suficiente para alcanzar las concentraciones de 1500, 2000 (concentración de campo), 2500 ppm respectivamente. Al medio de cultivo contenido en el cuarto matraz no se le agregó el fungicida a fin de utilizarlo como control. Posteriormente el medio de cultivo de cada uno de los cuatro matraces fue servido en placas de Petri estériles (cuatro placas por cada concentración, incluyendo el control).
 - **Preparación de agar Sabouraud con las diferentes concentraciones de Rhizolex-T**
Estando aún fundido el medio a una temperatura aproximada de 45° C. A cada uno de tres matraces se le adicionó el fungicida Rhizolex-T, en cantidad suficiente para alcanzar las concentraciones de 3500, 4000 (concentración de campo), 4500 ppm respectivamente. Al medio de cultivo contenido en el cuarto matraz no se le agregó el fungicida a fin de utilizarlo como control. Posteriormente el medio de cultivo de cada uno de los cuatro matraces fue servido en placas de Petri estériles (cuatro placas por cada concentración, incluyendo el control).
 - **Preparación del agar Sabouraud con las diferentes concentraciones de Homai WP**
Estando aún fundido el medio a una temperatura aproximada de 45° C, a cada uno de tres matraces se le adicionó el fungicida Homai WP, en cantidad suficiente para alcanzar las concentraciones de 4750, 5000 (concentración de campo), 5250 ppm respectivamente. Al medio de cultivo contenido en el cuarto matraz no se le agregó el fungicida a fin de utilizarlo como control. Posteriormente el medio de cultivo de cada uno de los cuatro matraces fue servido en placas de Petri estériles (cuatro placas por cada concentración, incluyendo el control).
 - **Preparación de las soluciones de Benzomil, Rhizolex-T, Homai WP**
Se llevó a cabo diferentes diluciones de Benzomyl, Rhizolex-T y Homai WP en agua destilada estéril hasta alcanzar las concentraciones de 1500, 2000, 2500; 4500, 5000, 4500; 4750, 5000, 5250 ppm, respectivamente a partir de las muestras originales de Benzomyl(4g/L), Rhizolex-T (5g/L) y Homai WP(1000g/200L)
 - **Preparación del inóculo de esporas**
El inóculo de esporas se obtuvo agregando 10 mL de agua destilada estéril a cada tubo de una resiembra de cultivo que contenía *F. oxysporum*. Luego se agitó moderadamente a fin de liberar las esporas del hongo. La suspensión resultante fue colocada en un matraz estéril determinándose la concentración de esporas mediante recuento en cámara de Neubauer y se diluyó en agua estéril a fin de obtener una concentración final de 6×10^5 esporas/mL.

- Siembra de *F. oxysporum* en medio de cultivo con diferentes concentraciones de Benzomyl, Rhizolex-T, Homai WP

Se colocó 1 mL de cada dilución de los fungicidas en tubos de ensayo estériles, a los cuales se les agregó 1 mL de la suspensión de esporas obtenida previamente, con lo cual se obtuvo una dilución de 3×10^5 esp/mL y concentraciones finales 1500, 2000, 2500 ppm de Benzomil; 3500, 4000, 4500 ppm de Rhizolex-T y 4750, 5000, 5250 ppm de Homai WP. Se preparó también una suspensión de esporas control (sin fungicida), agregándole 2 mL de la suspensión de esporas en 2 mL de agua destilada estéril.

Se inoculó 0.1 mL de cada suspensión de esporas en su correspondiente placa de Petri con agar Sabouraud, de acuerdo a la concentración final de los fungicidas, incluyendo el control, luego con la ayuda de una asa extensora se procedió a extender la muestra sobre toda la superficie a fin de que el líquido se distribuya uniformemente.

Se incubaron las placas de Petri con agar Sabouraud anteriormente inoculadas, por un período de 2 días. Seguidamente se procedió a cortar el agar en cuadrados de 1 cm de lado con la ayuda de un bisturí. La lectura de los resultados se llevó a cabo mediante recuento directo en el microscopio a 100 X, a fin de ubicar las esporas individuales germinadas.

Con la ayuda de una aguja hipodérmica N° 25 (jeringa tuberculina) estéril se procedió a aislar las esporas germinadas presentes en cada una de la placas con las diferentes concentraciones de Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai WP, las cuales fueron inmediatamente llevadas a las placas de Petri preparadas, de acuerdo a sus correspondientes concentraciones de fungicidas, incluyendo el control y se incubaron a temperatura ambiente por doce días.

Lectura de los resultados⁴⁰

A partir del tercer día de siembra y hasta el décimo segundo día, se midió el radio de crecimiento (mm) en diferentes direcciones de las colonias de *R. solani* y *F. oxysporum* que se desarrollaron, con lo cual se obtuvo datos de cada repetición, para cada concentración de los fungicidas a evaluar, registrándose el radio promedio final de crecimiento de *R. solani* y *F. oxysporum* en cada concentración de cada fungicida por día.

Los resultados de crecimiento de *R. solani* se expresaron en milímetros radiales y en porcentaje de crecimiento (%C), teniendo en cuenta el crecimiento alcanzado en el ensayo testigo (100%).

$$\%C = \frac{\text{Radio promedio final del cultivo problema} \times 100}{\text{Radio promedio del control}}$$

Análisis de datos

Los datos obtenidos de las lecturas de los resultados fueron analizados mediante el Programa estadístico SPSS v. 15 para calcular el Análisis de Varianza (ANAVA) y comparar las medias de crecimiento (cuando el hongo comienza a crecer es signo que presenta resistencia para dicho fungicida) de *R. solani* y *F. oxysporum* obtenidas para cada concentración de Benzomyl 500, Rhizolex-T y Homai WP y, para el análisis POST ANAVA se empleó la prueba estadística de Tukey.

RESULTADOS

Se encontró, en todos los casos, que el mayor porcentaje de crecimiento se dio en la placa control (0 ppm del fungicida) y que disminuye en tanto aumenta la concentración de la sustancia química, desapareciendo a la concentración de 2500 ppm y 1250 cuando se enfrentó a Benzomil 500 y *R. solana* y *F. oxysporum*, respectivamente (Fig. 1 y 2).

Se observó, asimismo, que *F. oxysporum* es más tolerante a Rhizolex-T que *R. solana* (Figs. 2 y 3) y que ambos hongos poseen el mismo comportamiento frente a Homai WP (Figs. 5 y 6).

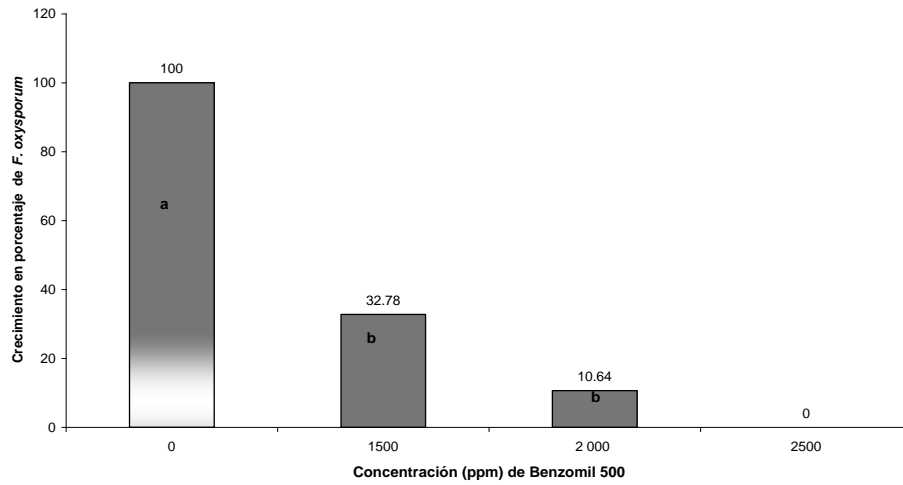


Fig. 1. Porcentaje de crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* en diferentes concentraciones de Benzomyl 500 en agar Sabouraud. Las letras internas (a,b) iguales significa que no hay diferencias estadísticamente significativas.

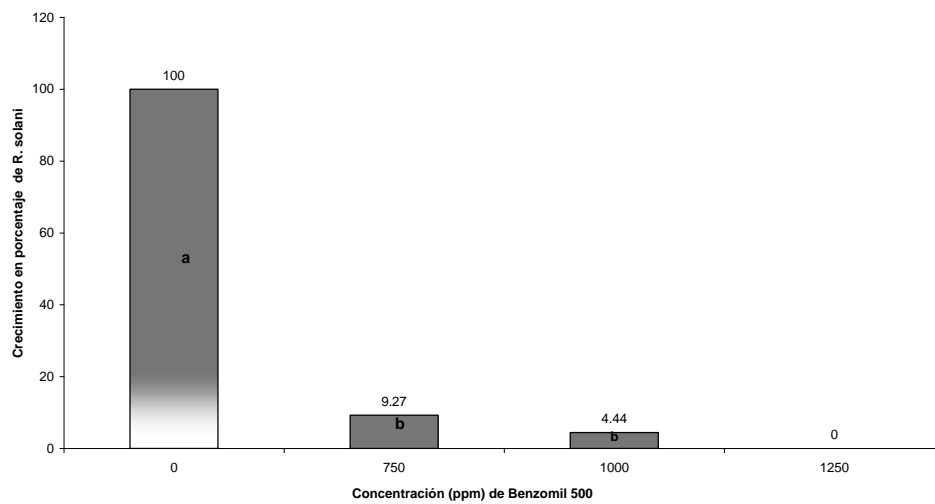


Fig. 2. Porcentaje de crecimiento *in vitro* de *Rhizoctonia solani* en diferentes concentraciones de Benzomyl 500 en agar Sabouraud. Las letras internas (a,b) iguales significa que no hay diferencias estadísticamente significativas.

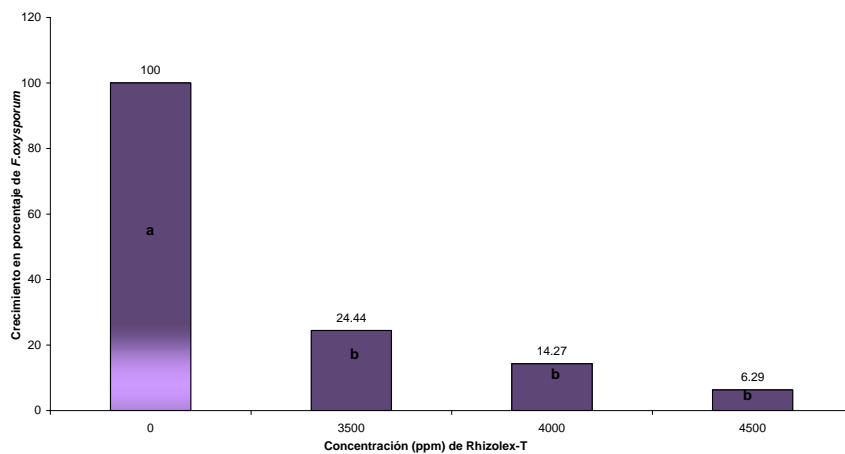


Fig. 3. Porcentaje de crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* en diferentes concentraciones de Rhizolex-T en agar Sabouraud. Las letras internas (a,b) iguales significa que no hay diferencias estadísticamente significativas.

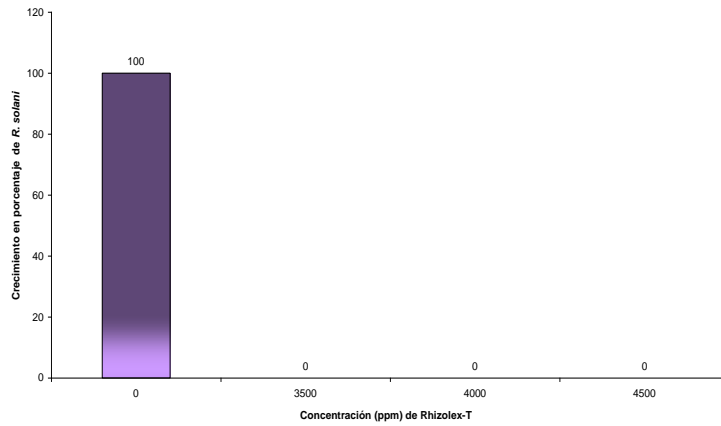


Fig. 4. Porcentaje de crecimiento *in vitro* de *Rhizoctonia solani* en diferentes concentraciones de Rhizolex-T en agar Sabouraud.

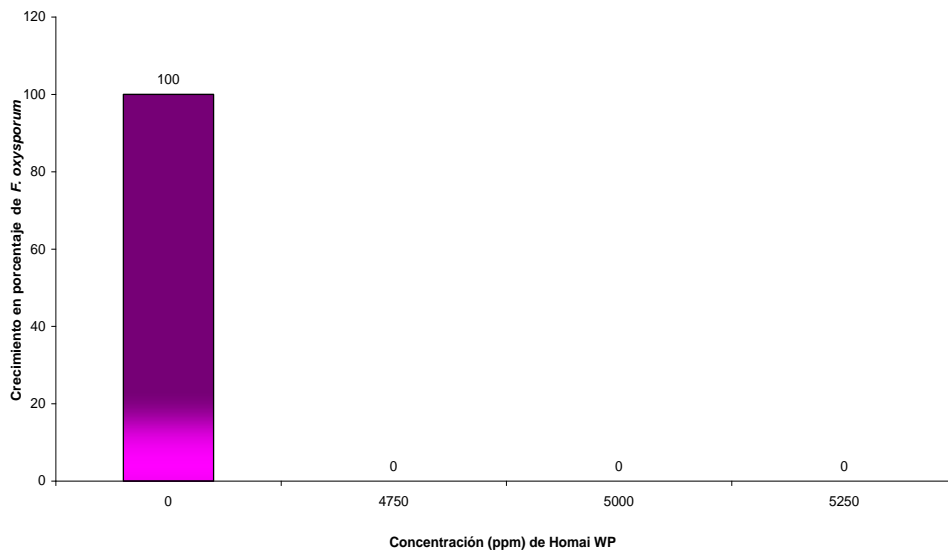


Fig. 5. Porcentaje de crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* en diferentes concentraciones de Homai-WP en agar Sabouraud.

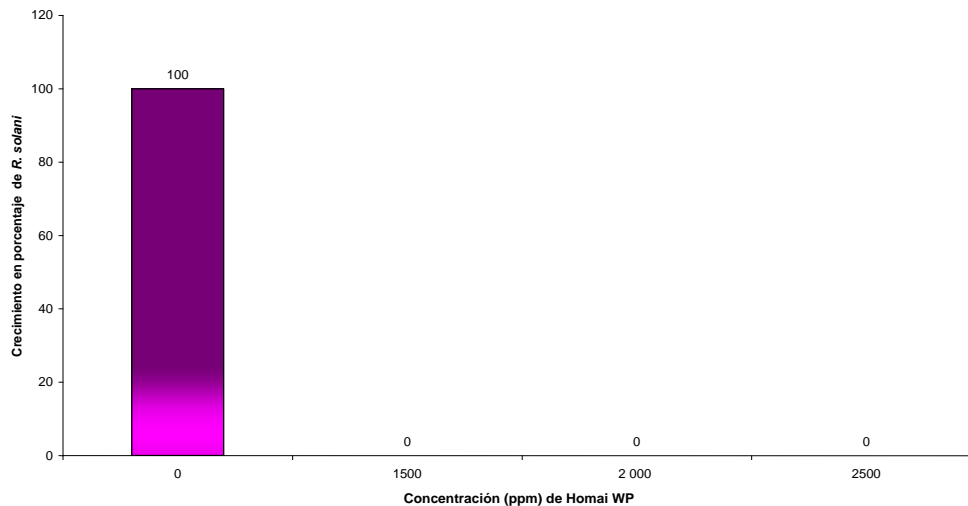


Fig. 6. Porcentaje de crecimiento *in vitro* de *Rhizoctonia solani* en diferentes concentraciones de Homai-WP en agar Sabouraud.

DISCUSIÓN

Benzomil 500, tiene como principio activo a benomyl, que pertenece al grupo de los benzimidazoles; debido a que éste actúa al convertirse en su derivado tóxico carbendazina y forma un complejo con las subunidades de los microtúbulos (enlace benzimidazol-tubulina), inhibiendo la formación del huso mitótico; uno de los motivos por los que se presenta resistencia a este fungicida, se debe tal vez a una modificación de los componentes celulares con los que interactúan los fungicidas de este grupo; específicamente, a un cambio en la estructura de la tubulina de la raza resistente^{41,42} con lo cual el benzimidazol pierde la posibilidad de formar el enlace benzimidazol-tubulina^{43,44} permitiendo así el crecimiento de dichos hongos (Fig. 1 y Fig.4).

En el fungicida Homai-WP, *F. oxysporum* y *R. solani* no presentaron crecimiento en las diferentes concentraciones (Fig. 3 y Fig.6), los componentes activos del fungicida son; el tiofanato-metil, perteneciente al grupo de los tiofanatos, relacionado a los benzimidazoles; y el thiram, ditiocarbamato que actúa sobre la respiración impidiendo la normal captación del oxígeno⁴⁵. Actualmente no se han realizado estudios específicos de estos dos principios activos sobre *R. solani* y *F. oxysporum*; sin embargo, basándose en el efecto de los ditiocarbamatos, clorotalonil y ftalimidias, podemos deducir su mecanismo de acción, los que están relacionados con la respiración mediante la formación de grupos SH en muchos puntos del metabolismo del hongo^{2,20, 46}, al inhibirse la respiración, ocasionan interferencia en la producción de ATP, en la formación de componentes lípidos y aminoácidos del hongo; que inhiben el crecimiento del tubo germinativo, la formación del apresorio, el desarrollo del micelio y de las esporas (en el caso de *F. oxysporum*)^{19,47}.

En Rhizolex-T, solo presentó crecimiento *F. oxysporum* (Fig. 2 y Fig. 5), cuyos componentes activos son: tolclofos metil, que interfiere en la formación de la pared celular del hongo o la permeabilidad de la membrana celular, y thiram, que inhibe la respiración celular^{39,40}. La resistencia de *F. oxysporum* se debería a la existencia de una serie de transportadores que actuaron como mecanismos de detoxificación⁴⁶; logrando la formación de glicolípidos a partir de las membranas y la fijación de C-glucosamina a la quitina dentro de las paredes celulares, mecanismos necesarios para la síntesis de la pared celular^{19,48}.

Asimismo, se observó que *F. oxysporum* creció en las placas con Benzomil 500 y Rhizolex-T, en cambio *R. solani* sólo creció en Benzomil 500; en ambos fungicidas se observó crecimiento en la concentración de campo (Dosis comercial), esto quiere decir que la dosis necesaria para inhibir a *F. oxysporum* y *R. solani*, no es correcta; caso contrario con Homai-WP, que inhibió el crecimiento incluso por debajo de la concentración de campo, lo que indica que los agricultores

están empleando una concentración inadecuada para el control de las enfermedades fúngicas, lo cual en el futuro traerá serias repercusiones en la efectividad de dicho fungicida; por lo tanto para una mejor eficacia de los fungicidas, y conociendo que la concentración de campo es la usada por empresas agroindustriales en el Perú, es necesario replantear el uso de Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP a dicha concentración.

CONCLUSIONES

- *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* presentan resistencia frente a Benzomyl 500 en las concentraciones de campo que son de 1000 ppm y 2000 ppm respectivamente.
- *F. oxysporum* y *R. solani* no presentan resistencia frente a Homai WP en ninguna de sus concentraciones evaluadas.
- *R. solani* no presenta resistencia frente a Rhizolex-T; mientras que *F. oxysporum*, si presenta, al crecer aun en una concentración superior a la usada en campo.

REFERENCIAS

1. Agrios GN. Fitopatología. 2^a ed. México: Limusa; 2004.
2. Arauz L. Fitopatología: Un enfoque agroecológico. Costa Rica: Universidad de Costa Rica; 1998.
3. Araujo R. Efecto in vitro de diferentes concentraciones de metribuzina y fenoxaprop-p-etil sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani*. Tesis para obtener el título de Biólogo-Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo. 2006.
4. Calle J. Caracterización morfológica y molecular de hongos fitopatógenos de suelo e identificación de bacterias foliares en el cultivo de cebolla. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Agronomía. Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayagüez. 2005.
5. Torres H. Manual de enfermedades más importantes del Perú. Centro Internacional de la Papa [sede Web] 2002 Jul. Disponible en: <http://www.cipotato.org/training/materials/HTorres/ContentsHTorres.asp>
6. Parmeter JC, Sherwood RT, Platt WD. Anastomosis groups among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. Rev. Phytopathology. 1969; 59: 1270-1278.
7. Sherwood RT. Morphology and physiology in four anastomosis groups of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopathology. 1969; 59: 1924-29.
8. Perez L, Castillo J, Cantu F. Efectividad biológica de TCMTB para el control de la costa negra *Rhizoctonia solani* Kuhn de la papa *Solanum tuberosum* L. en la Region de Leon, Guanajuato, Mexico. Rev. Acta Universitaria 2001; 11(3): 16-21.
9. Bruna A. Marchitez y pudrición de corona y raíces de espárrago (*Asparagus officinalis* L.) causado por *Fusarium oxysporum* Schlecht f. asparagi Cohen. Rev. SIDALC. 1991; 51(1): 52-54
10. Nirenberg H, Elmer W, Delgado M. Especies de *Fusarium* asociadas a los sistemas vascular y cortical del espárrago en La Libertad, Perú. Rev. Fitopatol. 2005; 40(1): 23-34.
11. Quilambaquí M. Aislamiento e Identificación de Especies de *Fusarium* spp Asociadas al Declinamiento del Espárrago (*Asparagus officinalis* L.) en Cinco Municipios de Guanajuato. México. Rev. Tecnológica ESPOLE 2005 Oct; 18 (1): 135-140.
12. Zavaleta M. Modificadores orgánicos en el manejo de enfermedades de la raíz. Rev. Mex. Fitopatol. 1987; 5(1): 159-168.
13. Stakman EC, Harran J. Principios de Patología Vegetal. 3^{ra} ed. Argentina: Universitario; 1977.
14. Perez W, Forbes G. Que es un fungicida. Centro Internacional de la Papa (serial online) 2005. (4 paginas en pantalla) Disponible en: <http://www.cipotato.org/publications/pdf/003862.pdf>
15. Primo E. y Carrasco J. Química Agrícola II: Plaguicidas y Fitorreguladores. Madrid: Alhambra; 1980.
16. Evans A. Enfermedades de las plantas y su Control Químico. Barcelona: Labor S.A.; 1973.
17. Tantalean JC. Determinación de las concentraciones fungistáticas y fungicidas de algunos productos químicos para hongos aislados de caña de azúcar de la CAA Paramonga-Perú Tesis para obtener el grado bachiller. Universidad Nacional de Trujillo. 1990.
18. Mont R. Principios del control de enfermedades de las plantas. Lima: Centro Pre- Universitario de UNALM; 1993.
19. Fernández-Northcote E. Fungicidas: historia, presente y futuro de los fungicidas utilizados para el control del tizón. En: Proceedings of the International Workshop on Complementing Resistance to Late Blight (*Phytophthora infestans*) in the Andes. GILB Latin American Workshops. 2001 Febr.
20. Martínez-Rodríguez A. Carrascosa A. Control APPCC de ocratoxina A en vino. Rev. ACE enol. 2007.

21. Maffei M, Quintero I, García R. Combinación de fungicidas protectivos y sistémicos para el control químico de la "candelilla tardía" de la papa (*Phytophthora infestans*) en Mucuchíes, estado Mérida, Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 1999; 16: 517-527.
22. Manejo integrado de las enfermedades de importancia económica de la vid en Colombia. Agronet (serial online).1998. Disponible en:
http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/2006112716238_Manejo%20integrado%20de%20enfermedades%20en%20VID.pdf
23. Neo Agrum S.A.C [sede Web]. Fungicidas. Disponible en: <http://neoagrum.com/benzomil.htm>
24. BASF. The Chemical Company [sede Web]. Perú: BASF Peruana S.A. 2004[acceso 15 de octubre 2007]. Catálogo de productos: Rhizolex-T. Disponible en: <http://www.basf.com.pe/agro/productos/rhizolex.htm>
25. ArgenPapa. Productos curasemillas para papa. Disponible en: <http://www.argenpapa.com.ar/default.asp?id=87>
26. BASF Peruana S.A. [sede Web]. Perú. Fungicidas. [acceso 15 de octubre 2008]. Disponible en: <http://www.basf.com.pe/agro/folletos/homai.pdf>
27. Prodinsa S. A. Información técnica Consist oil. Disponible en: <http://www.prodinsa.com.ar/ensayos/inf/inf%20Tecn%20CONSIST%20OIL.pdf>
28. Alcalá D, Marcano J, Pire A. Resistencia de cepas del hongo *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary resistentes a metalaxil en siembras de papa del estado de Lara. Agronomía Tropical 1985; 35(1-3):43-55.
29. Espinoza B, Riveros E, Secor G., Rivera V, Sotomayor R. Resistencia de *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary a metalaxil en cultivo de papas en el Norte de Chile. *Agricultura técnica* 2003; 63(2):117-124
30. McElhinny E, Grünwald N, Guzmán L, Fernández S, Lozoya H. *Phytophthora Infestans* (mont.) de Bary. I. especificidad hospedero-patógeno y componentes de resistencia. *Agrociencia* 2005; 40(3):205-217.
31. Grünwald N, Fernández S, Loyola H, y Perales D. Caracterización de *Phytophthora infestans* (mont.) de bary. ii. subpoblaciones obtenidas de especies silvestres de *Solanum*. *Agrociencia* 2006; 40(3): 325-333.
32. Díaz M, Fajardo D, Moreno J, García C, Núñez V. Identificación de Genes R1 y R2 que confieren resistencia a *Phytophthora infestans* en genotipos colombianos de papa.2003.
33. Novaes S, De Resende M, Paiva P. Efeito de diferentes fungicidas e de resistencia na inibicao do crescimento mivelial de *Fusarium oxyporum* f.p. gladioli e comparacao de metodologias de inoculacao em bulbos. *Summa phytopatológica*.2005; 31(4): 371-373.
34. Medeiros da Silva J, Coelho L. Resistencia a fungicidas de *Botrytis cinerea* causador de abombamiento en mudas. *Ciência Florestal* 2003; 13(2): 27-36.
35. Moyano C, Gómez V, Melgarejos P. Resistance to pyrimethanil and other fungicides in *Botrytis cinerea* populations collected on vegetable crops in Spain. *Jurnal of phytopathology*.2004; 152(8) (9): 484-490.
36. Corredor I, Cepero M, Restrepo S. Evaluación de la susceptibilidad de hongos endófitos aislados de rosa (rosa hybrida) a fungicidas comerciales. *Rev. Col. Biotecnol* 2007; 9(1): 59- 74.
37. Viñuela E. Resistencia a Insecticidas en España. *Bol. San. Veg. Plagas* 1998; (24): 487-496.
38. Bermejo P, Guerra JA, Martínez F. Gestión del riesgo de resistencia de patógenos a los fungicidas. En: Pascualena J, Ritter E. Libro de Actas del Congreso Iberoamericano de Investigación y Desarrollo en Patata. Patata 2000. Jul: 493-503.
39. Correa F. Reducción del uso y desarrollo de resistencia a plaguicidas en el cultivo del arroz y frijol en Colombia, Venezuela y Ecuador. CIAT Colombia. 2005. Proyecto N°: FTG-438/05.
40. Zumarán F. Efecto "in Vitro" de diferentes concentraciones de metribuzina sobre la germinación y el crecimiento de *Paccilomyces lilacinus*. Tesis para obtener el grado bachiller. Universidad Nacional de Trujillo. 2005.
41. Giménez I. Variaciones en la sensibilidad de aislamientos de *Phoma tracheiphila* ("Mal secco" de los Cítricos) en Italia. *Bol. San. Veg. Plagas* 1991; 17 (4): 477-496.
42. Davidse L. Benzimidazole fungicides: mechanism of action and resistance. In: *Fungicide Resistance in North America*. The American Phytopathological Society; 1998. pp: 25-28.
43. Leroux P, Fritz R, Debieu D, Albertini C, Chapeland F. Mechanism of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science*; 2002. 58: 876 - 888.
44. Auger J. La resistencia de *Botrytis cinerea* a los fungicidas del grupo benzimidazoles. Chile: Universidad de Chile; 2002.
45. Prodinsa S. A. Información técnica Consist oil. Disponible en: <http://www.prodinsa.com.ar/ensayos/inf/inf%20Tecn%20CONSIST%20OIL.pdf>

46. Montesino E. la resistencia a fungicidas y bactericidas. Factores de riesgo asociado al mecanismo de acción y al potencial evolutivo del patógeno. Rev. Sanid. Vegetal; 2005. 173: 10-15
47. Zepellin. The chemical company BASF AGRO mexicana; 2006. Disponible en: <http://www.cabrio-c.com.mx/atributos.htm>
48. Permán J. Mecanismo de resistencia a los antifúngicos. Univer. La Fe-España