

Nota de investigación

Eficacia de benomil y folpet sobre *Fusarium oxysporum* patógeno de la fresa

Marialicia Vega-López¹

Milagro Granados-Montero^{2§}

¹Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno-Escuela de Agronomía-Universidad de Costa Rica. 2 km oeste de la iglesia católica en Barrio San José, La Garita, Alajuela, Costa Rica. CP. 2060. Tel. 506 25117798. (marialicia.vega@ucr.ac.cr). ²Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas-Vicerrectoría de Investigación-Universidad de Costa Rica. Ciudad de la Investigación, Finca 2, Sede Rodrigo Facio, Costa Rica. CP. 2060. Tel. 506 25112341.

§Autora para correspondencia: maria.granadosmontero@ucr.ac.cr.

Resumen

En Costa Rica el cultivo de fresa es importante debido a la generación de empleos en zonas rurales; sin embargo, se ha visto afectado por patógenos fúngicos que han provocado reducciones en el área sembrada. El hongo *Fusarium oxysporum* está asociado a la marchitez y colapso de plantas, por lo que se probó la eficacia biológica *in vitro* de los fungicidas benomil y folpet, en tres concentraciones, para determinar si es posible su uso como alternativa de combate. La investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno, Alajuela, Costa Rica en el año 2021. Por medio de la técnica de alimento envenenado, se compararon los diámetros de crecimiento del micelio de tres cepas del hongo, expuestos por quintuplicado, a la dosis comercial, la décima y centésima parte de esta; así como a un tratamiento sin fungicida. Luego se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento provocado por cada dosis. El benomil mostró 100% de inhibición en todas las dosis para las tres cepas; mientras que el folpet, alcanzó un máximo de 60% en la dosis comercial. De acuerdo con los resultados, las cepas de *F. oxysporum* aisladas de plantas de fresa con síntomas de marchitez, responden de forma diferencial al benomil y al folpet.

Palabras clave: *Fragaria* × *ananassa* Duchesne ex Rozier, Costa Rica, marchitez.

Recibido: abril de 2023

Aceptado: mayo de 2023

La fresa o frutilla (*Fragaria* × *ananassa* Duchesne ex Rozier) es un cultivo de pequeña escala en Costa Rica, existen alrededor de 300 sistemas productivos entre 1-5 ha (INEC, 2015). De acuerdo con Zumbado *et al.* (1994) es una actividad que requiere 12 jornales por cada hectárea sembrada para cubrir las labores de vivero, producción, cosecha y empaque; además, por cada jornal hay una generación de cinco empleos indirectos, por lo cual es una actividad importante para las comunidades de Llano Grande de Cartago (principal zona productora), Poás y Fraijanes en Alajuela, Los Santos en San José y Vara Blanca en Heredia (SNITTA, 2017).

A partir de 2014 ha venido en aumento la incidencia de un problema fitosanitario en el cultivo de fresa que ha provocado que muchos pequeños productores dejen esta actividad, lo que se traduce en problemas económicos y sociales para estas familias y sus empleados, ya que se ha reducido al menos en 1 800 las fuentes de trabajo existentes en las zonas productoras (Avendaño, 2017; Zuñiga, 2017). Uno de los patógenos asociados a esta sintomatología en Costa Rica es *Fusarium oxysporum* Schltdl. sensu lato (Granados-Montero *et al.*, 2022). En el cultivo de fresa, este hongo puede llegar a producir 60% de pérdida de plantas (Golzar *et al.*, 2007).

Dentro de los síntomas se encuentran la reducción del crecimiento, marchitez ascendente, necrosis en las raíces y la corona, reducción de la cantidad de frutos y la eventual muerte de la planta, lo que Williamson *et al.* (2012); Koike *et al.* (2013) asocian a *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* (Fof). Según Koike y Gordon (2015) no hay estrategias de manejo eficaces contra esta enfermedad; sin embargo, en Costa Rica los productores de fresa utilizan frecuentemente al menos siete moléculas para el manejo químico de la marchitez (Zuñiga, 2020. Comunc. Pers.), entre ellas el benomil y el folpet. Por ello, el objetivo de esta investigación fue conocer la eficacia biológica de estos dos ingredientes activos en tres concentraciones, sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* sl. aislado de plantas de fresa con síntomas de marchitez.

La prueba se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno (EEAFBM), de la Universidad de Costa Rica. Ubicado en La Garita de Alajuela, Costa Rica. Se seleccionaron tres cepas de *F. oxysporum* s.l. (F2, F239 y F352) identificadas por medio del espaciador interno transcrito del ADN nuclear ribosomal nrDNA (ITS) por sus siglas en inglés, con los imprimadores ITS 5 e ITS 4 (White *et al.*, 1990). Estas fueron aisladas de raíces necróticas de plantas de fresa con síntomas de marchitez, recolectadas en Llano Grande y Vara Blanca, Costa Rica, en el año 2017. Granados-Montero *et al.* (2022) comprobaron la patogenicidad de la cepa F2 en plantas de fresa variedad Festival. Las cepas estaban almacenadas en celulosa a 4 °C.

Para producir el micelio en activo crecimiento necesario para la prueba se tomó una sección de la celulosa y se colocó un plato Petri con papa dextrosa agar (PDA) al 25% durante 10 días a la oscuridad a 24 °C.

Se determinó la eficacia de las moléculas benomil (AFUNGIL 50 WP® dosis comercial 400 g 200 L⁻¹ agua) en tres concentraciones: la dosis comercial (DC= 500 ppm), la décima parte de la dosis comercial (DC/10= 50 ppm) y la centésima parte de la dosis comercial (DC/100= 5 ppm) y folpet (Folpan 80 WG® dosis comercial 125 g 200 L⁻¹ agua) en tres concentraciones: la dosis comercial (DC= 1.01 ppm), la décima parte de la dosis comercial (DC/10= 0.1 ppm) y la centésima parte de la dosis comercial (DC/100= 0.01 ppm). Además de un tratamiento testigo sin fungicida.

Se utilizó la técnica del alimento envenenado descrita por Dhingra y Sinclair (1985), la cual consiste en situar discos de 5 mm de micelio en activo crecimiento en el centro de un plato Petri con medio PDA más el fungicida. Cada dosis por producto se repitió cinco veces. La medición del crecimiento micelial se realizó a los 10 días, tiempo necesario para que el testigo ocupará 100% del plato Petri. Se cuantificaron los diámetros ortogonales y se obtuvo un promedio por dosis. Con los datos obtenidos, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento de micelio (PICM) de acuerdo con Masiello *et al.* (2019), a saber, la diferencia entre el crecimiento del testigo y el crecimiento del tratamiento dividida entre el crecimiento del testigo y multiplicado por 100.

Los datos fueron analizados por medio de un Andeva, previa corroboración de los supuestos, y una comparación de medias a través de la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los dos fungicidas en las tres concentraciones fueron capaces de inhibir el crecimiento micelial de las tres cepas de *Fusarium oxysporum* s.l. en comparación con el testigo (Figura 1). El benomil logró 100% de inhibición de todas las cepas en todas las dosis, a diferencia del folpet, que alcanzó solo 60% en la dosis más alta (DC). De acuerdo con Castellanos *et al.* (2015) el benomil se considera como muy tóxico para las cepas evaluadas, ya que obtuvo más de 90% de inhibición del micelio, en cambio, el folpet es ligeramente tóxico, al estar en el rango de 30-75% de inhibición.

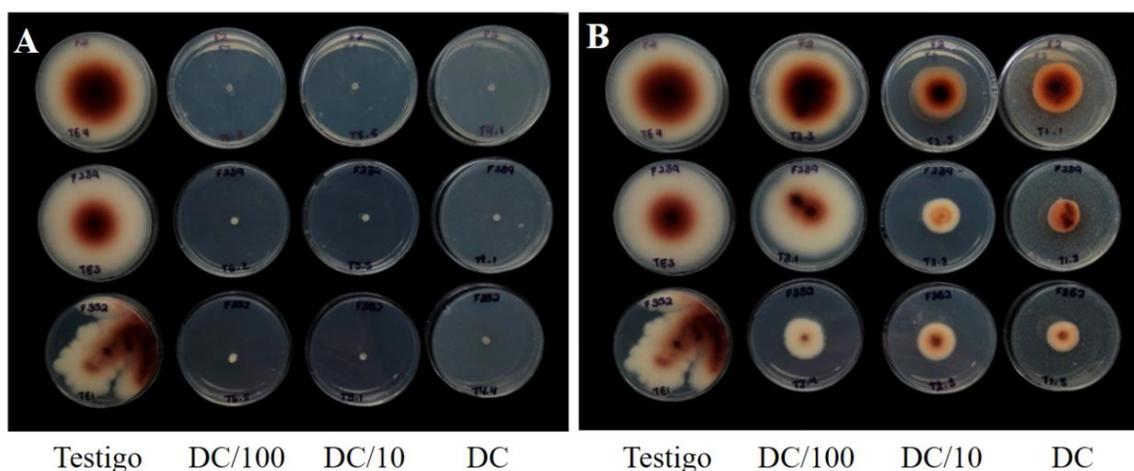


Figura 1. Crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schldt. sensu lato (cepas F2, F239 y F352) aislado de raíces de fresa (*Fragaria × ananassa* Duchesne ex Rozier) con síntomas de marchitez expuestos al ingrediente activo. A) benomil a la centésima parte de la dosis comercial (DC/100= 5 ppm), la décima parte de la dosis comercial (DC/10= 50 ppm) y la dosis comercial (DC= 500 ppm); y B) folpet a la centésima parte de la dosis comercial (DC/100= 0.01 ppm), la décima parte de la dosis comercial (DC/10= 0.1 ppm) y la dosis comercial (DC= 1.01 ppm).

La eficacia del benomil sobre *F. oxysporum* aislado de fresa fue reportada por Cho y Moon desde 1984, estos autores indicaron que dosis de 100, 300 y 600 ppm inhiben 100% del crecimiento micelial, y que en la dosis más alta no hay esporulación. Luego, en 1985, informaron que evita la germinación de las clamidosporas. Se ha demostrado que este fungicida es eficaz en inhibir el desarrollo de este patógeno, también en otros cultivos; por ejemplo, Yadav *et al.* (2017), para *F. oxysporum* recuperado de soya, hallaron 100% de inhibición en el crecimiento micelial a 250, 500 y 1 000 ppm.

Otros investigadores, han reportado menores porcentajes de inhibición, como el caso de Bashir *et al.* (2017) que encontraron para *F. oxysporum* f. sp. *capsici*, eficacias de 79, 8, 90, 2 y 93, 4 a dosis de 300, 500 y 700 ppm de benomil, respectivamente. Adicionalmente, Rafique *et al.* (2016) reportaron 90% de inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *lentis* a 100 ppm. Existe poca literatura referente al manejo químico de la marchitez por *Fusarium* de la fresa causado por *Fof*; debido probablemente, como lo mencionan Koike y Gordon (2015), que las estrategias están orientadas al manejo preventivo, con un enfoque de manejo integrado, fundamentalmente basado en el uso de materiales resistentes, ya que no hay tratamientos curativos efectivos.

Recientemente, Coronel *et al.* (2022) encontraron que *Fusarium solani* también está relacionado a la marchitez y muerte de plantas de fresa e informan de 100% de inhibición del crecimiento micelial *in vitro* a concentraciones de 250, 500 y 750 ppm de benomil. Por otro lado, el folpet mostró una eficacia de 60% de inhibición del crecimiento del micelio en la dosis recomendada (Cuadro 1). No se encontraron referencias del uso de este ingrediente activo para el combate de la marchitez en fresa, pero Masiello *et al.* (2019) reportaron baja eficacia de este ingrediente activo sobre el crecimiento micelial de tres cepas de *F. graminearum*, *Fusarium proliferatum* y *F. verticillioides*, así, a 120 ppm obtuvieron 42%, 50% y 44% en promedio, respectivamente; mientras que, a 1 200 ppm las eficacias promedio fueron 64%, 61% y 72%, respectivamente, cercanos a los obtenidos en este estudio.

Cuadro 1. Porcentaje de inhibición promedio del crecimiento del micelio de las tres cepas de *Fusarium oxysporum* Schltdl. sensu lato*.

	DC/100	DC/10	DC
Benomil	100 a	100 a	100 a
Folpet	23.9 b	56.5 b	60.4 c

*= expuestas a la centésima parte de la dosis comercial (DC/100), la décima parte de la dosis comercial (DC/10) y la dosis comercial (DC) de los ingredientes activos folpet y benomil. Las letras representan diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

El folpet ha sido utilizado por más de 55 años, por su parte el benomil lleva 40 años en el mercado (Gupta, 2018). De acuerdo con el FRAC (2020) el folpet es un fungicida multisitio con riesgo bajo de desarrollar resistencia; por su parte, el benomil es considerado de alto riesgo y se ha alcanzado resistencia en muchas especies de hongos. Sin embargo, según los resultados de esta investigación, las cepas de *F. oxysporum* evaluadas son sensibles al benomil y resistentes al folpet; lo que podría estar indicando que se ha utilizado con más frecuencia la última molécula para el manejo de la enfermedad en Costa Rica. De hecho, en concordancia con la lista de productos registrados para el cultivo, el Servicio Fitosanitario del Estado (SFE, 2022) indica que se encuentran inscritas tres formulaciones con ingrediente activo folpet, recomendadas para el manejo de *Fusarium oxysporum* en fresa, pero ningún producto a base de benomil.

Esto podría explicar, en parte, la resistencia al folpet de las cepas estudiadas. De acuerdo con lo expuesto, una alternativa para el combate químico de la marchitez de plantas de fresa podría ser el uso del benomil; sin embargo, es de importancia realizar pruebas de germinación de conidios y corroborar la eficacia con más dosis y cepas del hongo para contar con mayor soporte estadístico y biológico.

Conclusiones

El hongo *Fusarium oxysporum* s.l. asociado a la marchitez de plantas de fresa en Costa Rica presentó sensibilidad diferencial a fungicidas con ingrediente activo benomil y folpet.

Literatura citada

- Avendaño, L. 2017. Cultivo de fresa en área de Poás y alrededores. Presentación Powerpoint. Pitta-fresa. San José, Costa Rica. 5 diapositivas. en línea. <http://www.snitta.org/web/pittas.php?p=32ys=publicaciones-proyectos>.
- Bashir, M.; Atiq, M.; Sajid, M.; Mohsan, M.; Abbas, W.; Alam, M. and Bashair, M. 2017. Antifungal exploitation of fungicides against *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* causing *Fusarium* wilt of chilli pepper in Pakistan. Environ. Sci. Pollut. Res. 25(7):6797-6801.
- Castellanos, L.; Lorenzo, M.; Lina, B.; Hernández, R. y Guillén, D. 2015. Efecto *in vitro* de plaguicidas comerciales sobre *Trichoderma harzianum* cepa A-34. Rev. de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. 47(2):185-196.
- Cho, C. T. and Moon, B. J. 1984. Studies on the wilt of strawberry caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Fragariae* in Korea. Korean J. Plant Protec. 23(2):74-81.
- Coronel, A. C.; Lezama, C. P.; Hernández, Y. P.; Trinidad, O. S.; Tapia, A. R. y Romero, A. O. 2022. Efficacy of four *in vitro* fungicides for control of wilting of strawberry crops in Puebla-Mexico. Applied Sciences. Switzerland. <https://doi.org/10.3390/app12073213>.
- Dhingra, O. and Sinclair, J. 1985. Basic plant pathology methods. CRC Press Inc., Florida, USA.
- FRAC. 2020. Fungicide Resistance Action Committee (FRAC) Code List 2020. 1-16 pp. <https://www.frac.info/docs/defaultsource/publications/fraccodelist/fraccodelist2020final5d632b2c512362eb9a1eff00004acf5d.pdf?sfvrsn=f940499a-2>.
- Golzar, H.; Phillips, D. and Mark, S. 2007. Occurrence of strawberry root and crown rot in Western Australia. Australasian Plant Disease Notes. Sydney. 2:145-147.
- Granados-Montero, M.; Zúñiga-Castañeda, M.; Chaverri-Echandi, P.; Escudero-Leyva, E. y Mardones-Hidalgo, M. 2022. Patogenicidad de hongos asociados a plantas de fresa (*Fragaria ananassa*) y descripción ultraestructural del patosistema. Agronomía Costarricense. 46(2):09-28.
- Gupta, P. 2018. Toxicity of Fungicides. In: veterinary toxicology: basic and clinical principles. Third edition. 569-580 pp.
- Koike, S. T.; Gordon, T. R.; Daugovish, O.; Ajwa, H.; Bolda, M. and Subbarao, K. 2013. Recent developments on strawberry plant collapse problems in California caused by *Fusarium* and *Macrophomina*. Inter. J. Fruit Sci. 13(1-2):76-83.
- Koike, S. and Gordon, T. 2015. Management of *Fusarium* wilt of strawberry. Crop Protec. 73:67-72.
- Masiello, M.; Somma, S.; Ghionna, V.; Logrieco, A. and Moretti, A. 2019. *In vitro* and in field response of different fungicides against *Aspergillus flavus* and *Fusarium* species causing ear rot disease of maize. Toxins. 11(1):11-29.
- Rafique, K.; Rauf, C.; Naz, F. and Shabbir, G. 2016. Management of vascular wilt of lentil through host plant resistance, biological control agents and chemicals. Pak. J. Bot. 48(5):2085-2092.
- SFE. 2022. Servicio fitosanitario del estado. Consulta del registro de plaguicidas del cultivo de fresa. <http://app.sfe.go.cr/SFEInsumos.aspx/Insumos/ConsultaRegistroPlaguicida.aspx>.

- SNITTA. 2017. Sistema Nacional de Investigación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. Plan estratégico PITTA. Programa de Investigación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. <http://www.snitta.org/web/pittas.php?p=32ys=plan-estratégico>.
- White, T.; Bruns, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: Innis, M; Gelfand, D. H; Sninsky, J. J; White, T. J. Ed. PCR Protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, Inc. New York. 315-322 pp.
- Williamson, M. X.; Fernandez, O. D. and Schnabel, G. 2012. First report of Fusarium wilt of strawberry caused by *Fusarium oxysporum* in South Carolina. Plant Dis. 96(6):911-911. Doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-02-12-0164-PDN>.
- Yadav, S. and Ansari, M. 2017. Isolation, identification, and in vitro evaluation of fungicides against *Fusarium* leaf blight of soybean caused by *F. oxysporum*. Soybean Res. 15(1):46-55.
- Zúñiga, M. 2020. Fungicidas utilizados por los productores de fresa. Comunicación personal. Cartago, Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Agencia de Extensión Agropecuaria Llano Grande.