

Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a Los Fungicidas Comúnmente Usados Para su Combate

Luis Pérez-Moreno, José Javier Villalpando-Mendiola, Cecilio Castañeda-Cabrera y Rafael Ramírez-Malagón, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, División de Ciencias de la Vida, Apdo. Postal 311, Irapuato, Guanajuato, México CP 36500. Correspondencia: luispm@dulcinea.ugto.mx

(Recibido: Abril 25, 2008 Aceptado: Agosto 6, 2008)

Pérez-Moreno, L., Villalpando-Mendiola, J.J., Castañeda-Cabrera, C. y Ramírez-Malagón, R. 2009. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a los fungicidas comúnmente usados para su combate. Revista Mexicana de Fitopatología 27:11-17.

Resumen. Se evaluó la respuesta *in vitro* de *S. rolfsii* a cinco fungicidas usados para su control. Se usaron cinco aislados del hongo provenientes de tres localidades del estado de Guanajuato y uno de cada uno de los estados de Colima y Morelos, México, los cuales se confrontaron a los fungicidas tebuconazole (1.25 g.i.a./L), thiabendazole y TCMTB (4.0 g.i.a./L), procimidone e iprodione (3.33 g.i.a./L). Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial, con cinco repeticiones. La comparación múltiple de medias se realizó con la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Se registró el efecto de cada fungicida sobre el crecimiento radial micelial, la producción de esclerocios, el porcentaje de la viabilidad de esclerocios producidos y el vigor de crecimiento del hongo. Los resultados mostraron que existe poca variabilidad en los patrones de sensibilidad a fungicidas dentro de los aislados evaluados; asimismo, éstos presentaron efecto fungistático o retraso en el crecimiento micelial y reducción en el número de esclerocios con thiabendazole, procimidone e iprodione. Tebuconazole y TCMTB tuvieron un efecto fungicida inhibiendo el crecimiento micelial y la producción de esclerocios de los aislados.

Palabras clave adicionales: Control químico, marchitez sureña, resistencia, ajo, cebolla.

Los cultivos de ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.) representan para la parte central de México, fuente de divisas y generación de empleos. Las plagas y las enfermedades disminuyen significativamente su producción (Pérez *et al.*, 1995), sobresaliendo la enfermedad conocida como “marchitez sureña” cuyo agente causal es *Sclerotium rolfsii* Sacc. que ha llegado a causar pérdidas del 30% (Montes *et al.*, 2003; Montes-Belmont *et al.*, 2003) al 50% (Winstead *et al.*, 1960); por lo tanto, es necesario considerar medidas de prevención, manejo y control. Sin embargo, hasta la fecha se conoce poco sobre como controlar esta enfermedad en los cultivos de ajo y cebolla (Montes-Belmont *et al.*, 2003). En

Abstract. The *in vitro* reaction of *S. rolfsii* to five fungicides used for its control was evaluated. Five isolates of *S. rolfsii* from three localities of Guanajuato state, one from Colima and another from Morelos, Mexico were tested with the fungicides tebuconazole (1.25 g.i.a/L), thiabendazole and TCMTB (4.0 of g.i.a/L), procymidone, and iprodione (3.33 of g.i.a./L). A completely randomized experimental design with a factorial arrangement and five replications was used. Multiple mean comparison was done with Tukey's test ($P < 0.05$). The variables recorded were the effect of each fungicide on micelial radial growth, sclerotia production, the percentage of sclerotia viability, and vigor growth. The results showed little variability in sensitivity of isolates to the fungicides tested. The isolates displayed fungistatic effect or delayed micelial growth and reduction in number of sclerotia when treated with thiabendazole, procymidone and iprodione. Tebuconazole and TCMTB were fungicidal and inhibited mycelial growth and sclerotia production.

Additional keywords: Chemical control, southern blight, resistance, garlic, onion.

Abbreviated article.

Garlic (*Allium sativum* L.) and onion (*Allium cepa* L.) are important crops in central Mexico because they are a source of income and generate jobs. Pests and diseases affect significantly their production (Pérez *et al.*, 1995), but southern blight caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. stands out because it may cause losses from 30% (Montes *et al.*, 2003; Montes-Belmont *et al.*, 2003) to 50% (Winstead *et al.*, 1960); therefore, it is important to consider preventive measures, management, and control. There are about 500 plant species from 100 families which are susceptible to attack by *S. rolfsii* in the United States (Farr *et al.*, 1989); and the total number of hosts are not known (Punja, 1985). This might influence the level of reliability of control measures like crop rotation (Flores-Moctezuma *et al.*, 2006). Chemical control is a viable alternative, but the fungus has shown different response to chemicals, and the data generated in different regions of the world is not consistent (Bracho *et al.*, 1995; Hagan and Olive, 1999). Therefore, the objective of this work was to evaluate the susceptibility of *S. rolfsii* to fungicides commonly used

los Estados Unidos de Norteamérica se conocen alrededor de 500 especies de 100 familias de plantas susceptibles a su ataque (Farr *et al.*, 1989); desconociéndose con exactitud el total de sus hospedantes (Punja, 1985), lo cual puede influir en los niveles de confianza de medidas de control como la rotación de cultivos (Flores-Moctezuma *et al.*, 2006). Dentro de las alternativas de manejo de la enfermedad, se ha considerado que el control químico es una alternativa viable; sin embargo, los datos generados sugieren una gran variabilidad en el comportamiento del hongo, ya que se han obtenido resultados contrastantes en diferentes regiones del mundo cuando se han hecho evaluaciones de productos químicos para el combate de *S. rolfsii* (Bracho *et al.*, 1995; Hagan y Olive, 1999). Por lo tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la susceptibilidad de *S. rolfsii* a fungicidas comúnmente empleados para su control.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la División de Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato, localizado en Irapuato, Guanajuato, México.

Colección de aislamientos. Los aislamientos de *S. rolfsii* fueron colectados durante el 2003 en diferentes localidades y cultivos en México: León, Guanajuato, en cebolla; Colima, Colima, en chile (*Capsicum annuum L.*); Cuautla, Estado de Morelos, en cebolla; Silao, Guanajuato, en jitomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*); Irapuato, Guanajuato, en cebada (*Hordeum vulgare L.*).

Cultivo del hongo. De cada aislamiento de *S. rolfsii* se tomaron esclerocios los cuales fueron desinfestados superficialmente con hipoclorito de sodio al 1% durante 2 min; se enjuagaron cinco veces con agua destilada estéril, se sembraron en cajas de Petri con medio sólido de extracto de malta agar (EMA) y se incubaron en oscuridad a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ durante tres días.

Evaluación de los fungicidas. Para la evaluación se preparó el medio sólido de extracto de malta (Difco), a razón de 2 g de extracto de malta más 2 g de agar bacteriológico en 100 mL de agua destilada. Los productos evaluados fueron los siguientes: 1) Tebuconazole, 1.25 g i.a./L (Bayer Crop Science), 2) Thiabendazole, 4.0 g i.a./L (Syngenta Agro), 3) TCMTB [2(tiocianometiltiobenzotiazol)], 4.0 g i.a./L (Buckman Laboratories), 4) Procimidone, 3.33 g i.a./L (Bayer Crop Science) y 5) Ipridione, 3.33 g i.a./L (Bayer Crop Science). El fungicida se agregó al medio estéril antes del vaciado en placa cuando éste presentó una temperatura de 55°C . Se mezcló uniformemente y se vació a las cajas petri de 9 cm de diámetro. De cada aislamiento de *S. rolfsii* obtenido de diferentes localidades y cultivos, se tomaron discos de micelio de 1 cm de diámetro de las cajas Petri donde el hongo se encontraba cubriendo el 80% de la superficie del medio y se colocaron en el centro de la placa que contenía cada uno de los fungicidas. Las cajas inoculadas se incubaron a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y se evaluó el crecimiento radial del micelio (cm) a las 24, 48, 72, 96, 120, 168, 192, 216, 240, 264 y 288 h posteriores a la siembra.

for its control.

MATERIALS AND METHODS

This work was carried out in the Phytopathology laboratory of the Life Sciences Division, University of Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, in Irapuato, Guanajuato, Mexico.

Collection and culture of isolates of *Sclerotium rolfsii*.

Isolates were collected in 2003, from four crops in five locations of Mexico: Leon, Guanajuato, in onion; Colima, Colima, in pepper (*Capsicum annuum L.*); Cuautla, Morelos state, in onion; Silao, Guanajuato, in tomato (*Lycopersicon esculentum Mill.*); Irapuato, Guanajuato, in barley (*Hordeum vulgare L.*). From each isolate, sclerotia were disinfested superficially with 1% sodium hypochlorite for 2 min, rinsed five times with sterile distilled water, plated in malt-agar (MA), and incubated at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ for three days.

Evaluation of fungicides. Malt extract medium was prepared with malt extract 2 g, agar 2 g, and 100 mL distilled water. The products to evaluate were: 1) Tebuconazole, 1.25 g a.i./L (Bayer Crop Science), 2) Thiabendazole, 4.0 g a.i./L (Syngenta Agro), 3) TCMTB [2(tiocyanometiltiobenzotiazol)], 4.0 g a.i./L (Buckman Laboratories), 4) Procymidone, 3.33 g a.i./L (Bayer Crop Science), and 5) Ipridione, 3.33 g a.i./L (Bayer Crop Science). Fungicides were incorporated in the medium before pouring into the plates at 55°C . From each isolate growing in MA a 1 cm piece was placed in the middle of plates with the different fungicides and incubated at $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Radial growth was evaluated 24, 48, 72, 96, 120, 168, 192, 216, 240, 264, and 288 h after plating.

Number of sclerotia produced after fungicide testing, percentage of sclerotia viability, vigor, and number of sclerotia produced after re-plating sclerotia. The number of sclerotia produced (average of five replications) was recorded 21 days after plating isolates in medium mixed with individual fungicides. Percentage sclerotia viability and vigor was determined 14 days after plating 10 sclerotia (with five replications) produced in medium mixed with fungicides. Values were recorded by using the rating scale proposed by the Horticultural Research International of Wellesbourne, UK (Entwistle and Smith, 1994), where: 0 = Sclerotia do not show any growth; 1 = Sclerotia with first hyphae; 2 = Sclerotia with hyphae in 25% of the plate; 3 = Sclerotia with hyphae in 50% of the plate; 4 = Sclerotia with hyphae in 100% of the plate; 5 = Formation of white sclerotia; 6 = Formation of brown sclerotia. Twenty one days after re-plating sclerotia produced in medium with fungicides, the number of new sclerotia produced was recorded in 10 circles (1.0 cm diameter each) of medium. Values obtained were the average of three replications.

Experimental design. A completely randomized factorial design with five replications was used. Factor A corresponded to fungicides with five levels, and factor B to isolates of the fungus with five levels. The experimental unit was a Petri plate. Multiple mean comparison was performed with Tukey

Número de esclerocios producidos después de la confrontación con fungicidas, porcentaje de viabilidad de esclerocios, vigor de crecimiento del hongo y número de esclerocios obtenidos al resembrar los primeros esclerocios. A los 21 días después de la siembra se contó el número de esclerocios producidos en cada caja Petri después de la confrontación con fungicidas, el cual se obtuvo como el promedio de los valores obtenidos en cinco repeticiones. El porcentaje de viabilidad de esclerocios y vigor de crecimiento del hongo se determinó a los 14 días después de la siembra, a partir de los esclerocios producidos con los tratamientos de fungicidas tomando una muestra de 10 esclerocios, utilizando la escala propuesta por el Horticultural Research International de Wellesbourne, en el Reino Unido (Entwistle y Smith, 1994), donde: 0 = Esclerocio sin crecimiento; 1 = Esclerocio con primeras hifas; 2 = Esclerocio con hifas en el 25% del círculo de agar; 3 = Esclerocio con hifas en el 50% del círculo de agar; 4 = Esclerocio con hifas en el 100% del círculo de agar; 5 = Formación de esclerocios blancos en el círculo de agar; 6 = Formación de esclerocios cafés en el círculo de agar. El porcentaje de viabilidad de esclerocios y vigor de crecimiento del hongo se obtuvo como el promedio de los valores obtenidos en las cinco repeticiones. Finalmente, a los 21 días después de la resiembra de los esclerocios producidos de los tratamientos de fungicidas, se determinó el número de esclerocios en 10 círculos de agar de 1.0 cm de diámetro en cajas Petri. El número de esclerocios se obtuvo como el promedio de los valores obtenidos en tres repeticiones.

Diseño experimental. Se utilizó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial con cinco repeticiones. El factor A correspondió a los fungicidas con cinco niveles y el factor B a los aislados del hongo con cinco niveles, siendo la unidad experimental una caja Petri. La comparación múltiple de medias se hizo con la prueba de Tukey $P < 0.05$.

RESULTADOS

Se observaron diferencias altamente significativas en los tratamientos con los fungicidas en todas las fechas de evaluación después de la confrontación (Cuadro 1), lo cual significa que los fungicidas evaluados propiciaron diferente crecimiento del micelio del hongo; igual significancia para aislados del hongo en los períodos de evaluación de 24 y 48 h; significancia a las 72 y 96 h y no significancia a las 120 a 288 h después de la confrontación. Lo anterior indica que los aislados de *S. rolfsii* usados tuvieron diferente crecimiento del micelio en el medio de cultivo con fungicidas en los períodos de evaluación de 24, 48, 72 y 96 h después de la confrontación; diferencias altamente significativas se observaron para la interacción tratamientos de fungicidas por aislados del hongo en todos los períodos de evaluación, lo que significa que al menos con alguno de los tratamientos con fungicidas tuvo un crecimiento micelial diferente con alguno de los aislados en todos los períodos de evaluación. Se encontró también que el tebuconazole y TCMTB inhibieron el crecimiento micelial en todos los aislados mientras que

($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Highly significant differences were observed among isolates treated with fungicides after 24 to 96 h of plating (Table 1), as well for the interaction fungicides by isolate. Tebuconazole and TCMTB inhibited mycelial growth of all isolates, while thiabendazole, procymidone, and iprodione reduced growth at different intensity (Table 2). Isolates from Irapuato and Colima grew faster than isolate from Silao. They also were faster to initiate growth and had an average radial mycelial growth faster in the presence of thiabendazole, procymidone, and iprodione (Tables 2 and 3). Highly significant differences were found for number of sclerotia produced by fungicide treatments, isolates of the fungus, and for their interaction with a coefficient of variation of 47% (Table 1). Tebuconazole and TCMTB inhibited sclerotia production in all isolates, while thiabendazole, procymidone, and iprodione reduced sclerotia production in different proportion (Table 4). The isolate from Irapuato produced the lowest number of sclerotia and the isolate from Cuautla the highest (Table 5). For percent viability of sclerotia produced in fungicide treatments, highly significant differences were observed for treatments with fungicides and for their interaction with isolates, and significance for isolates of the fungus, with a coefficient of variation of 28% (Table 1). Iprodione caused the highest percent sclerotia viability (Table 4). Isolates from Cuautla and Leon, obtained from onion, had the highest percent sclerotia viability, while the isolate from Colima, had the lowest (Table 5). Regarding vigor of the fungus, highly significant differences were observed for fungicide treatments and isolates, as well as for their interaction, with a coefficient of variation of 19%. Tebuconazole and TCMTB did not allow any fungal growth (Table 4), followed by procymidone. The isolate from Cuautla obtained from onion had the greatest growth, while the isolate from Colima obtained from pepper had the lowest (Table 5). In relation to number of sclerotia from sclerotia which were produced during fungicide treatments, highly significant differences were found for fungicides, isolates of the fungus, and their interaction, with a coefficient of variation of 49% (Table 1). Thiabendazole, procymidone, and iprodione reduced sclerotia production at different intensity (Table 4), while isolates from Colima and Irapuato produced the lowest number of sclerotia and the isolate from Cuautla produced the highest (Table 5). Results of this work indicate the possibility of a homogeneous population of *Sclerotium rolfsii* in the regions that produce vegetables in the state of Guanajuato. Isolates from Leon, Silao, and Irapuato showed similar behaviour, and could be included in one group based on tolerance-susceptibility to the fungicides evaluated. Similar results were reported by Stewart (1990), who evaluated 20 isolates of *Sclerotium cepivorum* Berk. (a fungus closely related to *S. rolfsii*) from Australia and other countries, and found uniform sensitivity to fungicides *in vitro*. Other researchers had previously

Cuadro 1. Resultados de los análisis de varianza para crecimiento radial, viabilidad y número de esclerocios producidos, así como vigor de crecimiento de aislados de *Sclerotium rolfsii* tratados con fungicidas *in vitro*.

Table 1. Results of the analysis of variance for radial growth, viability and number of sclerotia produced, as well as vigor of isolates of *Sclerotium rolfsii* treated with fungicides *in vitro*.

Variables ^y	Fungicidas (F)	Aislados (A)	Interacción (FxA)	CV (%)
Crecimiento radial a las 24 h	*** ^z	**	**	37
" a las 48 h	**	**	**	29
" a las 72 h	**	*	**	35
" a las 96 h	**	*	**	35
" a las 120 h	**	NS	**	34
Número de esclerocios producidos por tratamiento (21d)	**	**	**	47
Viabilidad de esclerocios (%) producidos con los tratamientos (14d)	*	**	**	28
Vigor de crecimiento del hongo, de esclerocios producidos con tratamientos (14 d)	**	*	**	19
Número de esclerocios producidos en la resiembra de los esclerocios provenientes de los tratamientos de fungicidas (21d)	**	**	**	49

^yLas evaluaciones realizadas a las 168, 192, 216, 240, 264 y 288 h para la variable crecimiento radial resultaron altamente significativas para Fc fungicidas y su interacción y NS para Fc aislados con un CV de 31.79, 30.15, 29.86, 29.74, 29.55, 29.42, respectivamente.

^zNS = Probabilidad > 0.05 (no significativo); ** = Probabilidad < 0.01 (altamente significativo); * = Probabilidad < 0.05 (significativo); CV = Coeficiente de variación.

thiabendazole, procimidone e iprodione redujeron el crecimiento en diferente intensidad (Cuadro 2). Por otra parte, los aislados que crecieron más rápido fueron los de Irapuato y Colima, comparados con el de Silao. Estos mismos aislados fueron más rápidos para iniciar su crecimiento y tuvieron un crecimiento radial micelial promedio más rápido en presencia de thiabendazole, procimidone e iprodione (Cuadros 2 y 3). Para la variable número de esclerocios producidos, se observaron diferencias altamente significativas para tratamientos de fungicidas, aislados del hongo y para su interacción con un coeficiente de variación del 47%; lo anterior significa que tanto los tratamientos de fungicidas evaluados

reported about the variation in reaction of isolates of the fungus to the presence of fungicides (Entwistle, 1990; Lertes and Krauthausen, 1994; Stewart and Fullerton, 1990). In this work, it was not expected that all isolates of *S. rolfsii* would grow in the presence of thiabendazole, procymidone, and iprodione; this is probably related, among other factors, to the continuous use of fungicides for control of root diseases of various crops in fields from which isolates were obtained. Insensitivity to dicarboximides has been reported for *S. cepivorum* (Pérez *et al.*, 1997). These results contrast with the sensitivity that all isolates showed with tebuconazole and TCMTB, possibly because these fungicides have not

Cuadro 2. Crecimiento radial micelial *in vitro* de los aislados de *Sclerotium rolfsii* evaluados con cinco fungicidas.

Table 2. *In vitro* radial mycelial growth of isolates of *Sclerotium rolfsii* evaluated with five fungicides.

T ^y	Crecimiento radial del micelio (cm) a diferentes períodos de incubación (h)										
	24	48	72	96	120	168	192	216	240	264	288
A	0.00 c ^z	0.00 d	0.00 e	0.00 d							
B	1.63 b	2.87 b	4.50 c	6.39 b	7.93 a	8.64 a					
C	0.00 c	0.00 d	0.00 e	0.00 d							
D	1.73 b	3.37 b	5.53 b	6.54 b	6.58 b	6.95 b	7.09 b	7.11 b	7.42 b	7.43 b	7.44 b
E	1.34 b	1.98 c	2.43 d	2.81 c	2.99 c	3.14 c	3.25 c	3.27 c	3.29 c	3.34 c	3.34 c
F	3.59 a	7.86 a	8.70 a	8.70 a	8.70 a	9.00 a					

^yT = Tratamientos; A = Tebuconazole; B = Thiabendazole; C = TCMTB; D = Procimidone; E = Iprodione; F = Testigo.

^zValores con la misma letra en cada columna, no difieren estadísticamente (Tukey, p < 0.05).

Cuadro 3. Promedio del crecimiento radial micelial de cinco aislados de *Sclerotium rolfsii* con los tratamientos de fungicidas.
Table 3. Average radial mycelial growth of five isolates of *Sclerotium rolfsii* treated with fungicides.

	Crecimiento radial del micelio (cm) a diferentes períodos de incubación (h)										
	24	48	72	96	120	168	192	216	240	264	288
1 ^y	1.49 ab ^z	2.91 a	3.63 ab	4.14 a	4.32	4.54	4.54	4.54	4.55	4.55	4.56
2	1.58 a	3.03 a	4.02 a	4.45 a	4.69	4.93	4.93	4.93	4.93	4.93	4.93
3	1.13 bc	2.49 ab	3.33 ab	3.79 a	4.16	4.67	4.71	4.74	4.79	4.81	4.81
4	1.11 c	2.25 b	2.96 b	3.48 a	3.81	3.98	4.15	4.15	4.37	4.37	4.37
5	1.61 a	2.72 ab	3.70 ab	4.50 a	4.85	4.99	4.99	4.99	4.99	5.01	5.01

^yAislados: 1 = Cebolla-León, Guanajuato; 2 = Chile- Colima, Colima; 3 = Cebolla-Cuautla, Morelos; 4 = Jitomate-Silao, Guanajuato; 5 = Cebada-Irapuato, Guanajuato.

^zValores con la misma letra en cada columna, no difieren estadísticamente (Tukey, p < 0.05).

como los aislados usados indujeron diferente producción de esclerocios, y que por lo menos alguno de los aislados tuvo un número diferente de esclerocios con alguno de los tratamientos de fungicidas (Cuadro 1). El tebuconazole y TCMTB inhibieron la producción de esclerocios en todos los aislados, mientras que thiabendazole, procimidone e iprodione redujeron la producción de esclerocios en diferente proporción (Cuadro 4). Por otra parte, el aislado que produjo menos esclerocios fue el de Irapuato, comparado con el de Cuautla, el cual produjo la mayor cantidad de esclerocios (Cuadro 5). Para la variable porcentaje de viabilidad de los esclerocios producidos con los tratamientos de fungicidas, se observaron diferencias altamente significativas para tratamientos de fungicidas y para la interacción de tratamientos de fungicidas por aislados, y significancia para aislados del hongo, con un coeficiente de variación del 28%. Esto significa que tanto los tratamientos de fungicidas evaluados como los aislados usados propiciaron diferente porcentaje de viabilidad de los esclerocios, y que por lo menos alguno de los aislados del hongo tuvo un porcentaje diferente de viabilidad de los esclerocios con alguno de los tratamientos de fungicidas (Cuadro 1). Iprodione fue el que

been used indiscriminately for control of *S. rolfsii* in these localities, or because the fungus has not developed the physiologic capacity to withstand its effect. Results of this work indicate that diagnosis of the causal agent of southern blight, the rational use of fungicides, crop rotation, and in general the integrated disease management, are fundamental to continue cultivation of *Allium* species (garlic and onion) in the state of Guanajuato.

CONCLUSIONS

Little variability in sensitivity to fungicides was found in isolates of *Sclerotium rolfsii*, obtained from the states of Guanajuato, Colima, and Morelos. Thiabendazole, procimidone, and iprodione only delayed mycelial growth and reduced sclerotia production. Tebuconazole and TCMTB inhibited mycelial growth and sclerotia production.

End of the abbreviated article.

presentó el más alto porcentaje de viabilidad de los esclerocios (Cuadro 4). Por otra parte, los aislados que presentaron los mayores porcentajes de viabilidad de esclerocios fueron el de Cuautla, Morelos y el de León, Guanajuato, ambos

Cuadro 4. Promedio del número de esclerocios, porcentaje de viabilidad de esclerocios, vigor de crecimiento del hongo producido por los aislados evaluados con los tratamientos de fungicida y número de esclerocios producidos a partir de los esclerocios que se produjeron con los tratamientos de fungicidas.

Table 4. Average number and percent viability of sclerotia; vigor of isolates evaluated with fungicides; and number of sclerotia from sclerotia produced in treatments with fungicides.

Tratamientos	Esclerocios (No.)	Viabilidad (%)	Vigor de crecimiento	Esclerocios (No.) ^x
Tebuconazole	0.00 d ^y	0.00 c	0.00 c	0.00 d
Thiabendazole	252.96 b	89.60 ab	5.58 a	98.52 a
TCMTB	0.00 d	0.00 c	0.00 c	0.00 d
Procimidone	245.08 b	80.53 b	4.87 b	59.60 c
Iprodione	79.00 c	97.60 a	5.73 a	90.56 ab
Testigo absoluto	412.80 a	80.00 b	5.49 a	76.24 bc
Significancia ^z /CV	**/46.98	**/27.58	**/19.08	**/49.13
P > F	0.000	0.000	0.000	0.000

^xEsclerocios producidos a partir de las estructuras de resistencia que se produjeron con los tratamientos de fungicidas.

^yValores con la misma letra en cada columna, son estadísticamente iguales (Tuckey, p < 0.05).

^zSignificancia a nivel de P < 0.01..

Cuadro 5. Número promedio de esclerocios, porcentaje de viabilidad de esclerocios, vigor de crecimiento del hongo producidos con los tratamientos con fungicidas y número de esclerocios producidos a partir de los esclerocios que se produjeron con los tratamientos con fungicidas, en cinco aislados de *Sclerotium rolfsii*.

Table 5. Average number and percent viability of sclerotia; vigor of isolates treated with fungicides; and number of sclerotia from sclerotia produced in treatments with fungicides.

Aislados	Número de esclerocios por caja Petri	Viabilidad de esclerocios (%)	Vigor de crecimiento del hongo	Número de esclerocios por 10 círculos de agar
Cebolla - León, Guanajuato	186.53 a ^y	62.00 a	3.73 ab	66.07 ab
Chile - Colima, Colima	179.60 a	50.00 b	3.30 b	37.83 c
Cebolla - Cuautla, Morelos	201.40 a	62.67 a	3.95 a	77.17 a
Jitomate - Silao, Guanajuato	152.57 ab	56.44 ab	3.65 ab	49.37 bc
Cebada - Irapuato, Guanajuato	104.77 b	58.67 ab	3.43 b	40.33 c
Significancia ^z /CV	**/46.98	**/27.58	**/19.08	**/49.13
P > F	0.000	0.019	0.004	0.000

^yValores con la misma letra en cada columna, son estadísticamente iguales (Tukey, p < 0.05).

***significación a nivel de P < 0.01.

colectados de cebolla, comparados con el aislado de Colima, Colima, el cual presentó el menor porcentaje de viabilidad (Cuadro 5). En cuanto a vigor de crecimiento del hongo producido con los tratamientos de fungicidas, se observaron diferencias altamente significativas para tratamientos de fungicidas y para aislados del hongo, y significancia para la interacción con un coeficiente de variación del 19%; lo cual significa que tanto los tratamientos de fungicidas evaluados como los aislados usados propiciaron diferente vigor de crecimiento del hongo, y que por lo menos alguno de los aislados del hongo tuvo un vigor de crecimiento diferente con alguno de los tratamientos de fungicidas. Se encontró que tebuconazole y TCMTB fueron los que presentaron el menor vigor de crecimiento (Cuadro 4), es decir no presentó crecimiento micelial, mientras que de los otros tres fungicidas que permitieron el crecimiento del hongo, procimidone fue el que presentó el menor valor. El Cuadro 5 muestra que el aislado que presentó el mayor vigor de crecimiento fue el de Cuautla, Morelos, colectado de cebolla, comparado con los aislados de Colima, Colima, colectado de chile, y el de Irapuato, Guanajuato, colectado de cebada, los cuales presentaron el menor vigor de crecimiento. En el número de esclerocios producidos a partir de esclerocios que se produjeron con los tratamientos fungicidas, se observaron diferencias altamente significativas para tratamientos de fungicidas, aislados del hongo y para su interacción con un coeficiente de variación del 49%. Esto significa que tanto los tratamientos de fungicidas evaluados como los aislados usados propiciaron diferente producción de esclerocios, y que por lo menos alguno de los aislados del hongo tuvo un número diferente de esclerocios con alguno de los tratamientos de fungicidas (Cuadro 1). Se encontró que el thiabendazole, procimidone e iprodione redujeron la producción de esclerocios en diferente intensidad (Cuadro 4), mientras que los aislados que produjeron menos esclerocios fueron los de Colima, Colima,

y los de Irapuato, Guanajuato, comparados con el aislado de Cuautla, Morelos, el cual produjo la mayor cantidad de esclerocios (Cuadro 5).

DISCUSIÓN

El presente trabajo muestra la posible existencia de una población de *Sclerotium rolfsii* homogénea en las regiones productoras de hortalizas del estado de Guanajuato. Los tres aislados de *S. rolfsii* evaluados mostraron comportamientos semejantes, los cuales se pudieron incluir en un solo grupo de tolerancia-susceptibilidad a los diferentes fungicidas evaluados. Resultados similares son los reportados por Stewart (1990), quién realizó pruebas con un grupo de 20 aislados de *Sclerotium cepivorum* Berk. (hongo cercano a *S. rolfsii*) de Australia y otros países, encontrando que la sensibilidad *in vitro* a fungicidas fue uniforme. Resultados contrastantes ya se habían percibido por otros investigadores de este mismo hongo en cuyos trabajos previos reportan variación en las reacciones de diferentes aislados del hongo con la presencia de fungicidas (Entwistle, 1990; Lertes y Krauthausen, 1994; Stewart y Fullerton, 1990). Algo que no se esperaba en este estudio, fue que todos los aislados de *S. rolfsii* crecieron en presencia de thiabendazole, procimidone e iprodione; esto posiblemente se encuentra relacionado entre otras causas, con la historia de los campos de donde se obtuvieron los aislados de *S. rolfsii* usados, con respecto al uso continuo de fungicidas para el control de enfermedades radiculares en diferentes cultivos. La insensibilidad a dicarboximidas ya se ha reportado en *S. cepivorum* (Pérez *et al.*, 1997). Estos resultados contrastan con la sensibilidad que presentaron todos los aislados a tebuconazole y TCMTB. Esto posiblemente es porque estos fungicidas no han sido utilizados de manera indiscriminada para el control de este patógeno en estas localidades, o bien *S. rolfsii* no ha desarrollado la habilidad fisiológica para resistir su efecto. La

variabilidad observada en el comportamiento del patógeno a los diferentes fungicidas utilizados en su control, es un reflejo de lo que se observa en campo, en donde el uso de algunos fungicidas no muestra efecto en el control de la enfermedad. Los resultados de este trabajo sugieren que el diagnóstico del agente etiológico, el uso racional de los fungicidas, la rotación de cultivos y en general un manejo integrado de la enfermedad serán fundamentales para una continuación de la siembra de especies del género *Allium* (ajo y cebolla) en el estado de Guanajuato.

CONCLUSIONES

Se infiere poca variabilidad en la sensibilidad a fungicidas dentro de los aislados de *Sclerotium rolfsii*, de los estados de Guanajuato, Colima y Morelos. El thiabendazole, procimidone e iprodione únicamente retrasan el crecimiento micelial y reducen la producción de esclerocios. Los fungicidas tebuconazole y TCMTB inhiben el crecimiento micelial y la producción de esclerocios.

Agradecimientos. Se agradece el financiamiento parcial para la realización del proyecto, a la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado de la Universidad de Guanajuato, dentro del “Programa Institucional de Fortalecimiento a la Investigación 2003”.

LITERATURACITADA

- Bracho, F., Ramírez, R., Santos, R., Villalobos, D. y Castro, R. 1995. Control de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en tomate con fungicidas y humus. Revista Forestal Venezolana 1:73.
- Entwistle, A.R. 1990. Root Diseases. pp. 117-121. In: D.H. Rabinowitch, and J.L. Brewster (eds.). Onions and Allied Crops, Volume II, Chapter 6. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA. 320 p.
- Entwistle A.R., and Smith, J.E.S. 1994. Methods for research on *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*). pp. 1-6. In: A.R. Entwistle, and J.M. Melero-Vara (eds.). Proceedings of the Fifth International Workshop on *Allium* White Rot. Section 3 and 4. Instituto de Agricultura Sostenible. Apartado 3048-14080, Cordoba, Spain. 256 p.
- Farr, D.F., Bills, G.F., Chamuris, G.P., and Rossman, A.Y. 1989. Fungi on Plants and Plant Products in the United States American. Phytopathological Society. St. Paul, MN, USA. 1252 p.
- Flores-Moctezuma, H.E., Montes-Belmont, R., and Nava-Juárez, R. 2006. Pathogenic diversity of *Sclerotium rolfsii* isolates from Mexico and its potential control through solarization and organic amendments. Crop Protection 25:195-201.
- Hagan, A.C., and Olive, J.W. 1999. Assessment of new fungicides for the control of southern blight on aucuba. Journal of Environmental Horticulture 17:73-75.
- Lertes, B., and Krauthausen, H.J. 1994. Variability of *Sclerotium cepivorum* isolates in Rhineland-Palatinate, Germany. pp. 60-65. In: A.R. Entwistle, and J.M. Melero-Vara (eds.). Proceedings of the Fifth International Workshop on *Allium* White Rot. Section 3 and 4. Instituto de Agricultura Sostenible. Apartado 3048-14080, Cordoba, Spain. 256 p.
- Montes, B.R., Hernández, J.J., Nava, J.R.A., Flores, M.H.E. y Gutiérrez, O.M. 2003a. Caracterización morfológica y reproducción de esclerocios de aislamientos de *Sclerotium rolfsii* de México, en medios de cultivo y residuos de plantas agregadas al suelo. Resúmenes Conferencia Panamericana de Fitopatología. South Padre Island, Texas, USA. Resumen, p. 9.
- Montes-Belmont, B.R., Nava-Juárez, R.A., Flores-Moctezuma, H.E. y Mundo-Ocampo, M. 2003b. Hongos y nematodos en raíces y bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) en el estado de Morelos, México. Revista Mexicana de Fitopatología 21:300-303.
- Punja, Z.K. 1985. The biology, ecology, and control of *Sclerotium rolfsii*. Annual Review of Phytopathology 23:97-127.
- Pérez-Moreno, L., Salinas-Gonzalez, J.G. y Sánchez-Pale, J.R. 1995. Ensayo regional de adaptación y rendimiento (SIR-SAL) de materiales de ajo *Allium sativum* L. tolerantes a la pudrición blanca *Sclerotium cepivorum* Berk., generados por irradiación. Revista Mexicana de Fitopatología 13:18-25.
- Pérez, M.L., Olalde, P.V., Sánchez, P.J.R., Castañeda, C.C. y Enwistle, A.R. 1997. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium cepivorum* Berk., a los fungicidas comúnmente usados para su combate. Revista Mexicana de Fitopatología 15:9-14.
- Stewart, A. 1990. Field and laboratory resistance in *Sclerotium cepivorum* to dicarboximides in New Zealand. pp. 86-90. In: A.R. Entwistle (ed.). Proceedings of the Fourth International Workshop on *Allium* White Rot. Section 4. Braunschweig, Germany. 218 p.
- Stewart, A., and Fullerton, R.A. 1990. Chemical control of onion white rot in New Zealand. pp. 121-123. In: A.R. Entwistle (ed.). Proceedings of the Fourth International Workshop on *Allium* White Rot. Section 3. Braunschweig, Germany. 218 p.
- Winstead, N.N., Strider, D.L., and Person, L.H. 1960. Vegetable diseases in North Carolina during 1958 and 1959. Plant Disease Reporter 44:491-495.