EFICACIA DEL BENOMYL Y EL FLUDIOXONIL PARA EL CONTROL DE *VERTICILLIUM ALBO-ATRUM* REINKE & BERTHOLD Y *V. DAHLIAE* KLEBAHN EN SEMILLAS DE VEGETALES

Luis Pérez Vicente,[1] Jorge Abreu Fundora,[2] Michel Pérez Miranda,[1] Einar Martínez de la Parte[2] y María Pueyo Figueroa[2]

[1] *Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.ª B y 5.ª F, Playa, La Habana, C.P. 11600, lperezvicente@inisav.cu*

[2] *Centro Nacional de Sanidad Vegetal. Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal. Ayuntamiento 231 e/ San Pedro y Lombillo, Plaza de la Revolución, La Habana*

RESUMEN

Verticillium albo-atrum *y* V. dahliae *causan marchitez en diferentes especies hortícolas, ornamentales y forestales, y presentan una distribución mundial. Entre 1987 y 2008 fueron la causa del rechazo en Cuba de 38 lotes de semillas vegetales importadas de nueve países de Asia, América y Europa. Se trataron semillas de remolacha y de espinaca infectadas con* Verticillium *spp. mediante inmersión por 1 min en suspensión de 5 y 10 g de benomyl/L de agua, tratamiento húmedo con 0,05 y 0,1 g de fludioxonil + 40 mL de agua/kg de semillas. Se incluyeron un control seco y un control húmedo, para lo cual las semillas fueron sumergidas en agua por 1 min. Se secaron a temperatura ambiente e incubaron 400 semillas/tratamiento en placas Petri estériles bajo luz fluorescente a 27 °C por doce días. Los tratamientos con 5 y 10 g de benomyl y 0,1 g de fludioxonil/L de agua inhibieron el desarrollo de* Verticillium *spp. en las semillas. En un ensayo a nivel comercial, se trataron semillas de pimiento y espinaca infectadas con* Verticillium *spp. (1 t de c/u) por inmersión durante 1 min en una suspensión de 10 g de benomyl/L de agua, y se incubaron según el procedimiento descrito. En ninguna de las semillas tratadas fueron detectados* Verticillium *spp. El benomyl 10 g/L (inmersión por 1 min) y el fludioxonil (húmedo) a 0,1 g + 40 mL de agua/kg de semillas pueden usarse para la desinfección de semillas de vegetales contra* Verticillium *spp.*

Palabras claves: *Verticillium, tratamiento de semillas, benomilo, fludioxonil*

ABSTRACT

Verticillium dahliae *and* V. albo-atrum *are causal agents of wilt in different vegetable, ornamental and forest plants, readily transmitted in seeds, worldwide distributed and the cause of rejection in Cuba of vegetable seed parcels imported from different countries. Detroit Dark Red beet seeds infected with* Verticillium *spp. were treated by a) dipping for 1 min in a suspension of 5 and 10 g of benomyl/L of water and b) slurry treatment using 0.05 and 0.1 g of fludioxonil + 40 mL of water/kg of seeds. Dry and humid controls were included, in the last one seeds were dipped by 1 min in water. After treatment, seeds were air dried overnight at room temperature and 400 seeds/treatment were placed in four sterile 20 cm diameter Petri plates, and incubated under fluorescent lamps at 27 °C for 12 days. Treatments with 5 and 10 g of benomyl and 0.1 g of fludioxonil/L of water completely inhibited the development of* Verticillium *spp., meanwhile slurry treatment using 0.05 g of fludioxonil + 40 mL of water/kg of seeds, and dry and humid controls had 0.2, 3.0 and 3.3 % of infected seeds, respectively. Sweet pepper (California Wonder) and spinach (Matador) seeds (1 t of each one), infected with* Verticillium *spp. were treated by dipping during 1 min in a suspension of 10 g of benomyl/L of water, sampled and followed afterward the same incubation procedure described above. In any of the treated seeds were detected* Verticillium *spp. Benomyl at 10 g/L (dipping 1 min) and fludioxonil at 0.1 g + 40 mL water/kg of seeds (slurry) were effective in the disinfection of vegetable seeds against* Verticillium *spp.*

Keywords: *Verticillium, seed treatment, benomyl, fludioxonil*

INTRODUCCIÓN

V*erticillium dahliae* Kleb. y *V. albo-atrum* Reinke & Berthold son en la actualidad dos de las especies ampliamente aceptadas en la sección Nigrescentia del género *Verticillium*, e importantes fitopatógenos que inducen marchitez en un amplio rango de hospedantes [Barbara y Cleves, 2003].

V. albo-atrum es favorecido por temperaturas medias e inhibido por las altas, lo que determina una más alta

Recibido: 17/1/2011
Aceptado: 4/5/2011

distribución geográfica en países con climas templados [Carder y Bárbara., 1991]. *V. dahliae* se encuentra más distribuido en suelos con temperaturas superiores a 25 °C [Rowe, 1985; Powelson y Rowe, 1993], y posee un amplio rango de hospedantes, entre ellas más de trescientas especies de plantas dicotiledóneas, frutales, maderables, hortalizas y vegetales [Heale, 1997].

En Cuba existe un amplio grupo de cultivos económicamente importantes que constituyen hospedantes potenciales de estos microorganismos, entre los que se encuentran *Allium sativum, Beta vulgaris, Brassica oleracea, Capsicum annuum, Cucumis* sp., *Chrysantemun* spp., *Glycine max, Helianthus annuun, Lycopersicum esculentum, Manguifera indica, Manihot esculentum, Nicotiana tabacum, Persea indica, Raphanus sativus, Solanum tuberosum, Spinacia oleracea, Theobroma cacao* y un número importante de especies ornamentales de flores y hojas. Existen además malezas hospedantes de *V. dahliae* que sirven para perpetuar el inóculo y que abundan en los campos, tales como *Abutilon* sp., *Amaranthus* sp., *Calendula* sp., *Chenopodium album, Datura* spp. y *Solanum nigrum*, las cuales pueden desarrollar infecciones asintomáticas, lo que aumenta el riesgo de diseminación de la enfermedad.

En Estados Unidos se notifican pérdidas del 31 % en campos de papa infectados por *V. dahliae* [Hu *et al*., 1993], entre 6,5-47,1 % en tomates [Bender y Shoemaker, 1984], y en Israel de hasta el 22 % en pimientos [Tsror *et al*., 1998]. En Europa y Estados Unidos es casi prohibitivo el cultivo de variedades de tomate que no posean resistencia a *Verticillium* spp.

Los microesclerocios que desarrolla *V. dahliae* quedan en el suelo y garantizan la diseminación y los nuevos ciclos de infección del patógeno, mientras que *V. albo-atrum* produce hifas melanizadas de descanso, que tienen una sobrevivencia menor en el suelo. Es por ello que se ha prestado mayor atención al manejo de estos patógenos en el suelo, y existen en general pocas informaciones sobre la distribución de especies de *Verticillium* en semillas botánicas. Pegg y Brady (2002) y Vallad *et al*. (2005) informaron que *V. dahliae* y *V. albo-atrum* se diseminan eficientemente en semillas botánicas, tanto en su interior [Klisiewicks, 1975] como en su superficie, desde donde coloniza las raíces de la planta [Spek, 1973]. Estos patógenos vasculares sistémicos se distribuyen también por material agámico, como en el caso de frutales de pepita, ornamentales maderables [Chen, 1994] y papas [Omer *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 2008]. Du Toit *et al*. (2005) informaron de infecciones en semillas de espinacas entre el 1,5 y el 54 %, y en el 68 % de los lotes diagnosticados en el noroeste de Estados Unidos.

Ambos patógenos se encuentran en la lista de plagas cuarentenarias y reguladas de Cuba. El Laboratorio Central de Cuarentena (LCCV) del Centro Nacional de Sanidad Vegetal de Cuba, en los peritajes de vigilancia cuarentenaria, ha detectado su presencia en lotes de semillas importadas de diferentes orígenes, y en especies de plantas, las cuales han sido objeto de decomisos y reexportaciones. En los últimos años también se ha informado su presencia en campos de papa en diferentes localidades del país [Pérez *et al*., 2008].

Los factores como el estrés hídrico, la siembra de variedades susceptibles, el uso limitado de la rotación de cultivos, el establecimiento masivo de la producción hortícola en casas de cultivo, donde se plantan ciclos sucesivos de plantas hospedantes, y las limitaciones para la desinfección de los suelos, aumentan el riesgo del establecimiento del patógeno y facilitan su acumulación poliética en el suelo. Estos elementos tienen impacto en la agricultura y provocan disminución de los rendimientos. Por otro lado, la adopción de métodos orgánicos de producción de semillas de espinaca permite el movimiento del patógeno, y ha dejado a la semilla indefensa contra las infecciones del inóculo presente en los suelos [McMoran *et al.*, 2002].

Existen pocos estudios relacionados con los métodos de desinfección de semillas botánicas contra *V. dahliae* y *V. albo-atrum*, con vistas a disminuir y evitar el riesgo de transmisión a áreas libres de ambos patógenos. Se ha demostrado la eficacia del benomyl, thiabendazol y el metil tiofanato (inhibidores de la ß tubulina) en el tratamiento de semillas contra *Verticillium* [Du Toit *et al.*, 2005].

El fludioxonil es un derivado de los fenilpirroles [Gehmann *et al*., 1990], inhibidor de la proteína histidina kinasa PK III, involucrada en la ruta metabólica de la señal de transducción de la sensibilidad osmótica en la membrana citoplasmática [Gasztonyi y Lyr, 1995; Zhang *et al.*, 2002; Fujimura *et al*., 2003], que ha mostrado eficacia en el control de patógenos fúngicos que afectan a las semillas de arroz [Pérez *et al.*, 2009], papa y granos naturalmente infectados [Acuña *et al*., 2007].

Este trabajo tiene como objetivos detectar la presencia de *Verticillium dahliae* y *V. albo-atrum* en cargamentos

de semilla botánica de diferentes especies y orígenes geográficos durante el período 1998-2010, y determinar la eficacia de los fungicidas benomyl y fludioxinil en el control de estos patógenos mediante bioensayos en semillas de remolacha, espinaca y pimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Detección de *Verticillium dahliae* y *V. albo-atrum* en semillas botánicas importadas de especies hortícolas

Se analizaron 895 lotes de semillas botánicas importadas de acelga (*Beta vulgaris* var. cicla (L.) K. Koch), espinaca (*Spinacia oleracea* L.), pimiento (*Capsicum annuum* L.) y remolacha (*Beta vulgaris* L.) en el período 1997-2009, para lo cual se utilizaron 400 semillas por lote. Las semillas se desinfectaron superficialmente con NaOCl al 2 % durante 1 min, se lavaron dos veces con agua destilada estéril y se incubaron durante siete días en cámaras húmedas en placas de Petri de 15 cm bajo luz fluorescente y oscuridad alternante a 27 °C, hasta completar la germinación y desarrollo de las hojas cotiledonales y radículas. Se evaluó bajo el estereoscopio la presencia de conidióforos y esclerocios de *Verticillium* spp. Para determinar la especie involucrada se realizaron aislamiento de los crecimientos miceliales con conidióforos verticilados, y se utilizó el medio de cultivo papa-dextrosa-gar (PDA).

Bioensayos de evaluación *in vitro* de los fungicidas químicos

Se realizaron dos repeticiones del bioensayo *in vitro* con semillas botánicas de remolacha variedad Detroit Dark Red, y dos con semillas infectadas de espinaca variedad Matador. Para la desinfección de las semillas se utilizaron los fungicidas benomyl (Fundazol 50 % PH) y fludioxonil (Celest 2,5 FS). Las variantes experimentales establecidas fueron:

1. Testigo seco (100 g de semilla seca).
2. Testigo húmedo (100 g de semilla + 20 mL de agua destilada estéril).
3. Inmersión por 1 min en benomyl 0,05 % i.a. y dejadas secar al aire.
4. Inmersión por 1 min en benomyl a 0,1 % i.a. y dejadas secar al aire.
5. Fludioxonil tratamiento húmedo a 2,5 g i.a./100 kg de semillas y dejadas secar al aire.
6. Fludioxonil tratamiento húmedo a 5 g i.a./100 kg de semillas y dejadas secar al aire.

Después del tratamiento las semillas se dejaron secar al aire durante una noche y se incubaron en cámaras húmedas (Blotter test) bajo luz fluorescente a 25-27 °C por al menos diez días hasta completar el período de germinación de las semillas. Para todas las variantes se establecieron cuatro placas de Petri de 15 cm (réplicas) con 100 semillas cada una.

Se determinaron los porcentajes de germinación de las semillas, las frecuencias de incidencia de las especies de hongos que se desarrollaron en las diferentes variantes de tratamiento e incubación y la altura de 50 plántulas por tratamiento. Todos los datos de porcentaje fueron transformados a arcsen$\sqrt{\%}$ para su normalización, y las medias comparadas mediante la dócima de Tukey al 5 %.

Bioensayos a gran escala en lotes comerciales de semillas de remolacha y pimiento infectados con *Verticillium* spp.

Se trataron cinco lotes comerciales de remolacha Detroit Dark Red con un volumen de 5 t de semilla y siete lotes de semilla de pimiento California Wonder que se mantenían retenidos por cuarentena en frigorífico, en los cuales habían sido detectados patógenos *V. dahliae* y *V. albo-atrum*. Se determinó previo a la desinfección de la semilla, mediante el procedimiento ya descrito, el porcentaje de semillas infectadas por *Verticillium* spp. en una muestra compuesta de los lotes de cada una de las dos especies de semillas.

Las semillas se trataron por inmersión durante 1 min con benomyl al 0,1 % de i.a. Se tomaron muestras de cada uno de los lotes tratados y se incubaron de acuerdo con la metodología descrita en el acápite anterior. Se determinó la incidencia en semillas tratadas y sin tratar de ambas especies de *Verticillum*, así como otras especies fúngicas que incidieron sobre estas semillas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Detección de *Verticillium dahliae* y *V. albo-atrum* en semillas botánicas importadas de especies hortícolas

La presencia de conidióforos verticilados sobre la superficie de las semillas y en ocasiones de microesclerocios de *V. dahliae* (*Figs. 1* y *2*) puso en evidencia la presencia de infecciones de *Verticillium* spp. Una vez transferidos a placas con PDA y desarrolladas las colonias, se pudieron visualizar los restos pigmentados de micelio de *V. albo-atrum* (*Fig. 3*) y los microesclerocios (*Fig. 4*).

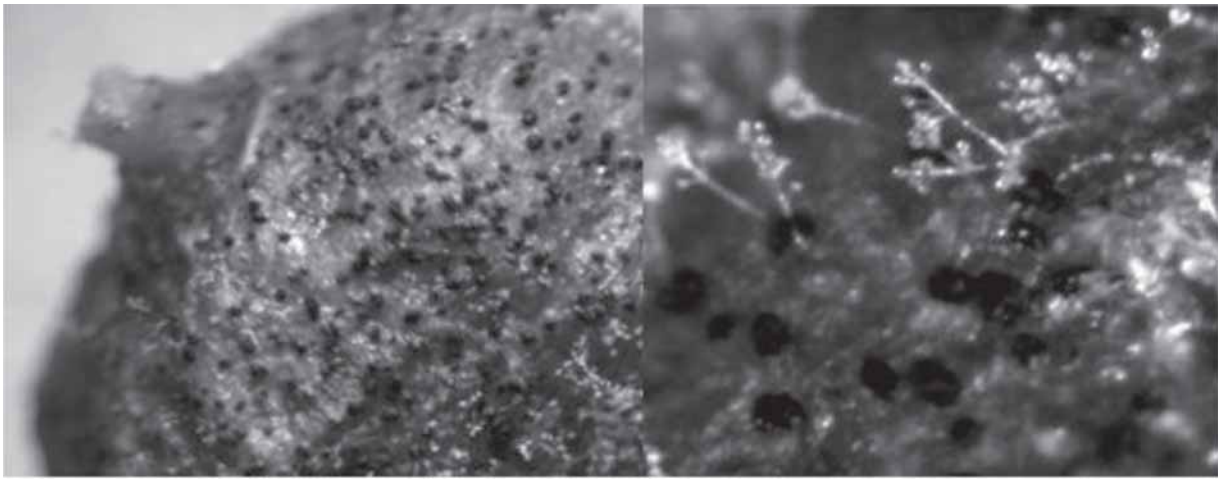

Figura 1. Conidióforos y microesclerocios de *V. dahliae* sobre semillas de espinaca (40x).

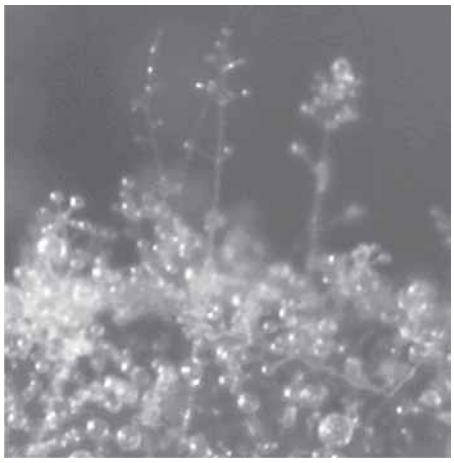

Figura 2. Conidióforos verticilados de *Verticillium* sp. (100x).

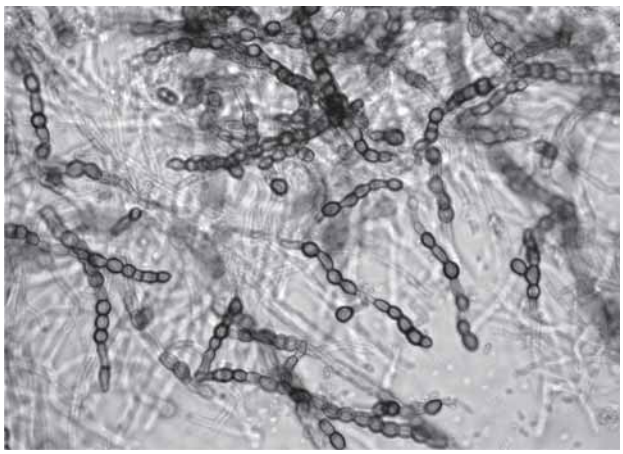

Figura 3. Hifas melanizadas típicas de *V. albo-atrum*

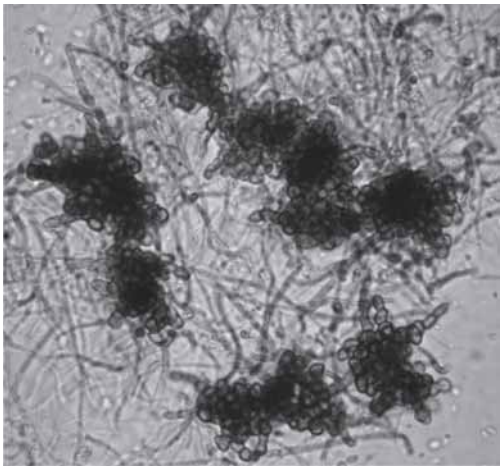

Figura 4. Microesclerocios de *V. dahliae*.

Durante el período 1997-2009 el LCCV realizó la intercepción de 62 lotes de semillas botánicas contaminadas con *V. albo-atrum y V. dahliae* provenientes de nueve países (*Tabla 1*).

Tabla 1. Intercepcionesde *V. albo-atrum* y *V. dahliae* realizadas por parte del LCCV en lotes de semillas botánicas importadas (período 1997-2009)

Especie hortícola	*Intercepciones*	*Patógeno*	*Origen*
Acelga	16	*V. albo-atrum*	Italia (12), Brasil (2), Serbia(2)
Culantro	1	*V. albo-atrum*	Italia
Espinacas	19	*V. dahliae* (12)	Holanda(3), Italia (6), EE. UU. (1), Japón (1)
(1)		*V. albo-atrum* (7)*	Italia (6) Japón (1)
Girasol	1	*V. dahlia*	Canadá
Hinojo	1	*V. albo-atrum*	Italia
Perejil	1	*V. albo-atrum*	Francia
Pimiento	5	*V. dahliae* (3)	España (2), Holanda(1)
		V. albo-atrum (2)	Francia, Italia
Remolacha	18	*V. dahliae* (2)	Italia (2)
		V. albo-atrum (16)	Italia (14), Serbia (2)
Flores	3	*V. albo-atrum*	Serbia

* En dos lotes, uno de Italia y otro de Japón, se detectaron ambos patógenos.

De los resultados de la tabla se puede apreciar que la transmisión *de V. albo-atrum* y *V. dahliae* es un evento relativamente frecuente en semillas botánicas en diferentes especies de plantas, y común en las semillas importadas a Cuba de diferentes países, como puede apreciarse en relación con las semillas de espinacas, remolacha, pimiento y acelga. Por esto las semillas botánicas importadas de áreas donde los patógenos están presentes constituyen un elemento de riesgo de su introducción al país.

Bioensayos de evaluación *in vitro* de los fungicidas químicos

En la *Tabla 2* aparece el resultado de los tratamientos realizados a la semilla de remolacha del primer ensayo.

Tabla 2. Eficacia de diferentes tratamientos en la desinfección de semillas de remolacha de la variedad Detroit Dark Red. Porcentajes de infección después de trece días de incubación bajo luz fluorescente

No.	*Variante de tratamiento*	*Ensayo en papel de filtro húmedo estándar [1] (%)*			
		Germinación	*Verticillium* spp.	*Alternaria alternata*	*Fusarium* spp.
1	Testigo seco (100 g de semilla seca)	90,5 b	3,3 b	0 ns	0 a
2	Testigo húmedo (100 g de semilla + 20 mL de agua destilada estéril)	86,3 ab	1,5 ab	7,0 ns	1,0 a
3	Inmersión por 1 min en benomyl 0,05 % i.a. y secadas al aire	76,0 a	0,2 a	1,0 ns	0 a
4	Inmersión por 1 min en benomyl 0,1% i.a. y secadas al aire	99,8 b	0 a	0 ns	0 a
5	Fludioxonil 0,025 g i.a./kg + 40 mL de agua/kg de semillas secadas al aire	96,0 b	0,2 a	0 ns	5,0 b
6	Fludioxonil 0,05 g i.a./kg + 40 mL de agua/kg de semillas y dejadas secar al aire	97,8 b	0 a	0 ns	2,0 b
	ESx	2,03	0,42	–	0.48

[1] Medias de cuatro repeticiones de 100 semillas cada una por tratamiento.
i.a.: Ingrediente activo.
ns: No significativo.
Letras no comunes indican diferencias significativas según test de Tukey al 5 %.

En los tratamientos con benomyl al 0,1 % i.a. y el fludioxonil a ambas dosis se produjo un incremento de la germinación de las semillas en relación con los testigos. Las variantes testigos húmedos y secos mostraron entre el 1,5 y 3,3 % de semillas infectadas con *Verticillium* spp.

Los tratamientos con benomyl al 0,05 % por inmersión durante 1 min, y fludioxonil a razón de 0,025 g i.a./ kg de semillas o 2,5 g i.a./100 kg de semillas, disminuyeron la incidencia de estas especies de hongos en la semilla, pero no inhibieron totalmente la aparición de *Verticillium* en los cotiledones y radículas.

El benomyl, a la concentración del 0,1 % de i.a., permitió una inhibición total de la aparición de *Verticillium* spp. Este tratamiento, sin embargo, no resultó efectivo para la inhibición de *A. alternata* en las semillas a la dosis más baja. Es conocido que el benomyl no controla eficientemente especies de *Alternaria*.

El fludioxonil no inhibió completamente el total de las especies de *Fusarium* que aparecieron en las semillas de remolacha.

Los mejores niveles de germinación de la semilla se obtuvieron con el tratamiento con benomyl por inmersión al 1 % i.a.

En la *Tabla 3* aparecen los datos de la segunda repetición del ensayo de desinfección de semillas de remolacha. El tratamiento con benomyl al 0,1 % y con fludioxonil 0,025 g i.a./kg de semilla mejoraron la germinación de la semilla con respecto a los testigos secos y húmedos.

En las variantes testigo húmedo y seco mostraron el 3 y el 4 % de infección de la semilla. Los tratamientos con benomyl al 0,05 y 1 % de i.a. y con el fludioxonil a ambas dosis inhibieron totalmente el desarrollo de *Verticillium* spp. Similarmente a como ocurrió con el primer ensayo, el benomyl no controló eficientemente *A. alternata*, ni el fludioxonil a las infecciones de *Fusarium* sp.

De forma general se observó que las semillas infectadas con *Verticillium* sp. pueden no germinar o morir durante las primeras etapas del proceso de desarrollo de las plantas. Esto puede conducir a una falsa estimación de la incidencia de la enfermedad en el campo debido a la muerte de las plántulas en germinación.

Tabla 3. Resultados del segundo ensayo de desinfección de semilla de remolacha variedad Detroit Dark Red

No.	*Variante de tratamiento*	*Ensayo en papel de filtro húmedo estándar [1] (%)*				
		Germinación	*Verticillium* spp.	*Alternaria alternata*	*Phoma* spp.	*Fusarium* spp.
1	Testigo seco (100 g de semilla seca)	80,5 a	3,0 a	12,3 c	0	1,0 ab
2	Testigo semilla húmeda (100 g de semilla + 20 mL de agua destilada estéril)	75,3 a	4,0 a	6,5 b	0	2,3 b
3	Inmersión por 1 min en benomyl 0,05 % i.a. y dejadas secar al aire	68,5 a	0 b	3,8 ab	0	0 a
4	Inmersión por 1 min en benomyl 0,1 % i.a. y dejadas secar al aire	80,3 a	0 b	4,5 ab	0,25	0 a
5	Fludioxonil 0,025 g i.a./kg + 40 mL de agua/kg de semillas y dejadas secar al aire	82,3 a	0 b	0 a	0	0,5 ab
6	Fludioxonil 0,05 g i.a./kg + 40 mL de agua/kg de semillas y dejadas secar al aire	66,3 a	0 b	0 a	0	1,2 a
	Es X	3,11	0,38	0,83	ns	0,195

[1]: Medias de cuatro repeticiones de 100 semillas cada una por tratamiento.
i.a.: Ingrediente activo.
ns: No significativo.
Letras no comunes indican diferencias significativas según test de Tukey al 5 %.

Desinfección de semillas de espinacas

En la *Tabla 4* aparecen los datos del ensayo de desinfección de semillas de espinaca variedad Matador de un lote infectado almacenado. La germinación de la espinaca fue baja en los testigos y los tratamientos. En estas semillas los índices de infección de *Verticillium* fueron altos y superiores a los encontrados en los lotes al ser detectados a la importación, lo que hace considerar que durante el almacenamiento prolongado ocurre transmisión, y los índices de infección por *Verticillium* spp. pueden aumentar.

El tratamiento con benomyl a ambas dosis permitió mejorar la germinación de la semilla de espinaca que se duplicó e inhibió totalmente su desarrollo de *Verticillium*, así como las infecciones por *Fusarium* sp. y *Phoma* sp.

Al igual que con la remolacha, las infecciones por *A. alternata* no fueron eficientemente controladas por este tratamiento. El fludioxonil a ambas dosis, aunque disminuyó infección con *Verticillium* sp. de las semillas en relación con los testigos, permitió aún un alto porcentaje de semillas enfermas, lo que hace considerar que no es un tratamiento eficiente cuando el nivel de infección de las semillas es alto. Al igual que en los ensayos con remolacha, mostró un mejor control de *A. alternata* que el benomyl.

Tabla 4. Desinfección de semilla de espinaca Matador contra *Verticillium* spp.

No.	*Variante de tratamiento*	*Ensayo en papel de filtro húmedo estándar [1] (%)*				
		Germinación	*Verticillium*	*A. alternata*	*Phoma* spp.	*Fusarium* spp.
1	Testigo seco (100 g de semilla seca)	33,3 abc	38,8 c	45,3 d	2,5 b	2,3 a
2	Testigo semilla húmeda (100 g de semilla + 20 mL de agua destilada estéril)	16,0 a	22,5 d	42,0 cd	5,0 c	1,8 a
3	Inmersión por 1 min en benomyl 0,05 % i.a. y dejadas secar al aire	64,8 c	0 a	25,5 bc	1,3 ab	0 a
4	Inmersión por 1 min en benomyl 0,1 % i.a. y dejadas secar al aire	68,3 bc	0 a	24,3 b	0,3 a	0 a
5	Fludioxonil 0,025 g i.a./kg + 40 mL de agua/kg de semillas y dejadas secar al aire	23,8 ab	15,0 bc	9,5 ab	0,5 a	8,0 b
6	Fludioxonil 0,05 g i.a./kg + 40 mL de agua/kg de semillas y dejadas secar al aire	24,3 ab	11,8 b	5,8 a	0,5 a	1,3 a
	ESx	4,94	2,91	3,38	0,37	0,67

[1]: Medias de cuatro repeticiones de 100 semillas cada una por tratamiento.
i.a.: Ingrediente activo.
ns: No significativo.
Letras no comunes indican diferencias significativas según test de Tukey al 5 %.

Biensayos a gran escala en lotes comerciales de semillas de remolacha y pimiento infectados con *Verticillium* spp.

La muestra compuesta de los lotes de semilla de remolacha presentó, previo al tratamiento con los fungicidas, el 3,5 % de infección, mientras que la muestra compuesta de los lotes de semilla de pimiento presentó el 0,2 %. En la *Tabla 5* aparecen los resultados de las evaluaciones de la eficacia del tratamiento a gran escala de semillas de remolacha y pimientos con benomyl al 0,1 % por 1 min.

Tabla 5. Eficacia del tratamiento por inmersión en suspensión de benomyl al 0,1 % por 1 min de lotes de semillas de remolacha Detroit Dark Red y pimiento California Wonder infectadas con *V. dahliae* y *V. albo-atrum*

Lote	*Semilla*	*Germinación (%)*	*Infección por Verticillium* spp. *(%)*	*Otros patógenos presentes en la muestra después del tratamiento*
1	Remolacha	96,2	0	*Alternaria alternata*, *Curvularia* sp.
2	Remolacha	97,1	0	*Rhizopus stolonifer*, *Graphium* sp., *Mucor* sp., *Curvularia* sp., *A. alternata*, *Bipolaris* sp., *Penicillium* sp.
3	Remolacha	93,2	0	*A. alternata*, *Mucor* sp., *Curvularia* sp.
4	Remolacha	98,1	0	*Graphium* sp., *Mucor* sp., *Curvularia* sp., *A. alternata*, *Penicillium* sp.
5	Remolacha	95,6	0	*R. stolonifer*, *Graphium* sp., *Mucor* sp., *Curvularia* sp., *A. alternata*.
6	Pimiento	73.1	0	*A. alternata*, *Fusarium* spp.
7	Pimiento	88,9	0	*Stemphylium solani*
8	Pimiento	90,0	0	*S. solani*, *Curvularia lunata*
9	Pimiento	85,5	0	*Curvularia lunata*, *C. pallescens*
10	Pimiento	82,8	0	*Curvularia pallescens*
11	Pimiento	86,8	0	*S. solani*

En ninguno de los lotes de remolacha y pimiento tratados con benomyl se detectó *Verticillium* spp., lo que demuestra la eficacia de este ingrediente activo para el control de estos patógenos. Esto apoya los informes previos realizados por Du Toit *et al*. (2005).

El agente fungitóxico del benomyl y los demás ingredientes activos del grupo de los benzimidazoles y tiofanatos (thiabendazol, carbendazim y metil tiophanato) es el metil benzimidazol carbamato (MBC). El benomyl o cualquiera de los ingredientes activos del grupo pueden ser utilizados para el control de *Verticillium albo-atrum* y *V. dahliae* en semillas botánicas.

CONCLUSIONES

- El tratamiento con benomyl a la dosis del 1 % de ingrediente activo inhibió las infecciones de *Verticillium albo-atrum* y *V. dahliae* en los ensayos realizados, lo que demostró su eficiencia para el control de estos patógenos en semillas botánicas.
- El tratamiento por inmersión en fludioxonil a la dosis de 5 g i.a./100 kg de semillas redujo el nivel de infección de la semilla, pero no erradicó totalmente las infecciones por *Verticillium* spp.
- El tratamiento con benomyl permitió mejorar la germinación de la semilla a partir del control de *Verticillium* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* y *Phoma*; sin embargo, no controla las infecciones de *Alternaria alternata*.

REFERENCIAS

Acuña, I.; M. Vargas; M. Uribeal:: «Tratamiento de semilla y/o surco de plantación sobre la incidencia de Rizoctoniasis *(Rhizoctonia solani)* en el cultivo de la papa», Proyecto Fondosag 24-10-100 INIA, Chile, 2007.

Barbara, D. J.; E. Clewes: «Plant Pathogenic *Verticillium* Species: How Many of Them Are There?», *Molecular Plant Pathology* 4 (4): 297-305, Inglaterra, 2003.

Bender, C. G.; P. B. Shoemaker: «Prevalence of *Verticillium* wilt of Tomato and Virulence of *Verticillium dahliae* Race 1 and Race 2 Isolates in Western North Carolina», *Plant Disease* 68 (4): 305-309, EE. UU., 1984.

Carder, J. H.; D. J. Barbara: «Molecular Variation and Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs) Within and Between Six Species of *Verticillium*», *Mycol. Res*. 95: 935-942, Inglaterra, 1991.

Chen, W.: «Vegetative Compatibility Groups of *Verticillium dahliae* from Ornamental Woody Plants», *Phytopathology* 84: 214-219, EE. UU., 1994.

Fujimura, M.; N. Ochiai; M. Oshima; T. Motoyama; A. Ichiishi; R. Usami; K. Horikoshi; I. Yamaguchi: «Putative Homologs of SSK22 MAPKK Kinase and PBS2 MAPK Kinase of *Saccharomyces cerevisiae* Encoded by os-4 and os-5 Genes for Osmotic Sensitivity and Fungicide Resistance in *Neurospora crassa*», *Bioscience Biotechnol. Biochem*. 67: 186-191, Japón, 2003.

Gasztonyi, M.; H. Lyr: «Miscellaneous Fungicides», *Modern Selective Fungicides: Properties, Applications, Mechanism of Action*, Chapter 19, 2nd ed., Gustav Fischer Verlag, NuevaYork, EE. UU., 1995, pp. 389-414.

Gehmann, K.; R. Nyfeler; A. J. Leadbeater; D. Nevill; D. Sozzi: «CGA173506: a New Phenylpyrrole Fungicide for Broad-Spectrum Disease Control», *Proc. Brighton Crop Prot. Conf. Pests Dis.* 2: 399-406, Inglaterra, 1990.

Heale, J. B.: «Diversification and Speciation in *Verticillium*-an Overview», *Advances in Verticillium, Research and Disease Managment*, ASP Press, EE.UU., 1997.

Hu, X.; R. N. Nazar; J. Robb: «Quantification of *Verticillium* Biomass in Wilt Disease Development», *Physiological and Molecular Plant Pathology* 42: 23-26, EE. UU., 1993.

Klisiewicz, J. M.: «Survival and Dissemination of *Verticillium* in Infected Safflower Seed», *Phytopathology* 65 (6): 696-698, EE. UU., 1975.

Omer, M. A.; D. A. Johnson; R. C. Rowe: «Recovery of *Verticillium dahliae* from North American Certified Seeds Potatoes and Characterization of Strains by Vegetative Compatibility and Aggressiveness», *American Journal of Potato Research* 77 (5): 321-333, EE. UU., 2000.

McMoran, D.; T. W. Miller; L. J. Du Toit: «Spinach Seed», Northwestern Washington Research & Extension Center, Washington State University, EE. UU., 2002.

Pegg, G. F.; B. L. Brady: «*Verticillium* Wilts», Wallingford, CABI, Inglaterra, 2002.

Pérez, L.; M. Pérez; J. Abreus; E. Martínez: «First Report of *Verticillium* Early Dying in Potato Fields in Cuba», *Fitosanidad* 12 (1): 61-62, La Habana, 2008.

Pérez, L.; M. Pueyo; M. Pérez: «Eficacia del fludioxonil en la desinfección de semilla de arroz contra patógenos fungosos», *Centro Agrícola* 36 (4): 5-12, La Habana, 2009.

Powelson, M. L.; R. C. Rowe: «Biology and Management of Early Dying of Potatoes», *Annual Review of Phytopathology* 31: 111-126, EE. UU., 1993.

Rowe, R. C.: «Potato Early Dying-a Serious Threat to the Potato Industry», *American Potato Journal* 62 (4): 157-161, EE. UU., 1985.

Spek, J. van der: «Seed Transmission of *Verticillium dahliae*», Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen *Rijksuniversiteit Gent* 38 (3): 1427-1434, Holanda, 1973.

Toit, L. J. Du; M. L. Derie; P. Hernández: «*Verticillium* wilt in Spinach Seed Production», *Plant Dis.* 89: 4-11, EE. UU., 2005.

Tsror, L.; O. Erlich; S. Amitai; M. Hazanovsky: «Verticillium Wilt of Paprika Caused by a Highly Virulent Isolate of *Verticillium dahliae*», *Plant Disease* 82: 437-439, EE. UU., 1998.

Vallad, G. E.; R. G. Bhat; S. T. Koike; E. J. Ryder; K. V. Subbarao: «Weedborne Reservoirs and Seed Transmission of *Verticillium dahliae* in Lettuce», *Plant Disease* 89: 317-324, EE.UU., 2005.

Zhang, Y.; R. Lamm; C. Pillonel; S. Lam; J. R. Xu: «Osmoregulation and Fungicide Resistance: the *Neurospora crassa os-2* Gene Encodes a *HOG1* Mitogen-Activated Protein Kinase Homologue», *Applied and Environmental Microbiology* 68: 532-538, EE. UU., 2002.