

RESISTENCIA DE *Botrytis cinerea* (Pers.) Fr., A DOS FUNGICIDAS BENZIMIDAZOLES UTILIZADOS EN LA FLORICULTURA

F. Ponce-González¹, M. G. García-Aguirre², H. Lozoya-Saldaña³, T. Herrera-Suarez².

¹Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, km 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. México (Autor responsable).

²Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México, D. F.

³Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, km 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. México.

RESUMEN

Para identificar y cuantificar cepas de *Botrytis cinerea* resistentes a benomyl y thiabendazol. Se colectó un aislamiento sensible en Santa Catarina, Texcoco, y 12 aislamientos en Villa Guerrero, Estado de México. Se condujeron bioensayos, los datos se procesaron con el PROBIT-SAS para obtener la CE_{50} y la CE_{95} . En benomyl los resultados indican que el aislamiento sensible tuvo una CE_{50} de $0.055 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y una CE_{95} de $0.49 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Las CE_{50} de los aislamientos de Villa Guerrero fluctuaron de 250.59 a $831.68 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y el factor de resistencia (FR), con relación al testigo susceptible, estuvo entre 4,555.18 y 15,120.45. En cambio la CE_{95} se ubicó entre 12,241.09 y $18,279.08 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y el F.R. fluctuó de 24,980.63 a 37,303.24. En thiabendazol el aislamiento sensible alcanzó 0.028 y $0.327 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ en su CE_{50} y CE_{95} , respectivamente. La CE_{50} de los aislamientos de Villa Guerrero fue de 88.51 a $129.96 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y el FR fue de 3,160.00 a 4,440.42, mientras la CE_{95} se ubicó entre 2,830.00 a $10,839.00 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y el FR estuvo entre 8,653.43 y 33,146.78. Con estos resultados se confirma la resistencia del hongo para benomyl y thiabendazol en la región de estudio.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: benomyl, thiabendazol, moho gris, rosas.

RESISTANCE OF *Botrytis cinerea* (Pers.) Fr. TO TWO BENZIMIDAZOLE FUNGICIDES USED IN FLOWER PRODUCTION

SUMMARY

To identify and quantify strains of *Botrytis cinerea* that are resistant to benomyl and thiabendazol, one susceptible isolate was collected in Santa Catarina, Texcoco, and 12 in Villa Guerrero, State of Mexico. Bioassays were conducted and the data were processed with PROBIT-SAS to obtain EC_{50} and EC_{95} . With benomyl, the results indicate that the susceptible isolate had a EC_{50} of $0.055 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ and a EC_{95} of $0.49 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. The EC_{50} of the isolates from Villa Guerrero fluctuated between 250.59 and $831.68 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, and the factor of resistance (FR), relative to the susceptible control, was between 4,555.18 and 15,120.45. In contrast, EC_{95} was found to be between 12,241.09 and $18,279.08 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, and FR fluctuated between 24,980.63 and 37,303.24. With thiabendazole, the EC_{50} and EC_{95} of the susceptible isolate reached 0.028 and $0.327 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, respectively. The EC_{50} of the isolates of Villa Guerrero was 88.51 to $129.96 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, and FR was 3,160.00 to 4,440.42, while EC_{95} was between 2,830.00 and $10,839.00 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. These results confirm that the fungus is resistant to benomyl and thiabendazole in the study region.

ADDITIONAL KEY WORDS: benomyl, thiabendazole, grey mildew, roses.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de resistencia a fungicidas preventivos o convencionales que en su mayoría son de acción no específica, sucede sólo en casos raros y usualmente a niveles muy bajos. Los fungicidas sistémicos son selectivos y actúan en un sitio específico en el metabolismo de la célula, por tanto, un simple cambio genético de ésta puede causar un alto nivel de resistencia (Van Tuyl, 1977). En

ese sentido Eckert (1988) señaló que de 1960 a 1988, los casos de resistencia de hongos a los fungicidas aumentaron de tres a más de 60 en EUA.

El desarrollo de resistencia a fungicidas en *Botrytis cinerea* es de gran importancia en el control de las enfermedades causadas por este hongo, principalmente cuando se han utilizado benzimidazoles (Coley-Smith, 1980).

La tolerancia de *B. cinerea* a benomyl fue primeramente reportada en Holanda en 1970 en aislamientos de cyclamen, después de dos años de uso de dicho producto, posteriormente se detectó en aislamientos de rosas en Canadá y después en Pensilvania en invernaderos con rosal, geranio, begonia, petunia, cyclamen y fucsia (Bollen y Scholten, 1971; Jarvis, 1975; Moorman y Lease, 1992.)

En México, la industria de la floricultura ha crecido en la última década en superficie, en nuevas especies y en su manejo intensivo en el área florícola de Villa Guerrero. El cultivo de la rosa es al que más ataca *B. cinerea*. En la región referida el control de esta enfermedad, desde hace varios años, depende solamente del uso de fungicidas benzimidazoles, donde destaca el benomyl, por eso se sospecha de la resistencia de *B. cinerea* a ese grupo de fungicidas, sin que a la fecha haya reportes al respecto en dicha región. Por lo anterior se estableció el presente trabajo con el objetivo de identificar cepas del hongo resistentes a benomyl, cuantificar a poblaciones del patógeno con dicha característica y analizar la posible resistencia adicional al thiabendazol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Medio de cultivo y su pH

Para conocer dónde desarrollaba mejor el hongo, se probaron tres medios de cultivo: papa-dextrosa-agar, extracto de malta-agar y tomate-agar. Además, considerando que la adición de diferentes cantidades de fungicida pudiera cambiar el pH del medio y en consecuencia afectar el crecimiento del patógeno, se midió el pH de seis concentraciones de benomyl, éstas fueron: 0,1,2, 5, 10 y 50 mg·ml⁻¹ del medio de cultivo.

Colecta del material

Para este estudio se colectó primero como referencia o testigo, una cepa sensible del hongo que nunca se había expuesto a benzimidazoles, ésta se encontró en Santa Catarina, Texcoco, Estado de México. Después, en el municipio de Villa Guerrero se colectaron 12 muestras de cuatro sitios representativos de la zona (Cuadro 1).

Aislamiento e identificación del patógeno

A partir del material infectado se obtuvo el hongo, ya sea por la siembra de trozos de pétalos en papa-dextrosa-agar (PDA), o bien promoviendo la esporulación y transfiriendo los conidios directamente al medio de cultivo. La identificación se realizó de acuerdo con la monografía de Jarvis (1977). Para tener el hongo con la mínima variación genética, se realizaron cultivos monospóricos de todas las cepas, de los que se tomó la muestra expuesta al producto.

CUADRO 1. Origen de las cepas de *Botrytis cinerea*.

Núm. Cepa	Clave	Cultivo	Sitio de colecta
1	RSSC1	Rosal silvestre.	Sta. Catarina, Texcoco. Méx.
2	GLLF1	Gladiolo.	La Finca, Villa Guerrero, Méx.
3	GLLF2	Gladiolo.	La Finca, Villa Guerrero, Méx.
4	RIFV1	Rosal invernadero.	Floravic, Coxcacoaco, Villa Guerrero, Méx.
5	RIFV2	Rosal invernadero.	Floravic, Coxcacoaco, Villa Guerrero, Méx.
6	RIFV3	Rosal invernadero.	Floravic, Coxcacoaco, Villa Guerrero, Méx.
7	RIFV4	Rosal invernadero.	Floravic, Coxcacoaco, Villa Guerrero, Méx.
8	RIFV5	Rosal invernadero.	Floravic, Coxcacoaco, Villa Guerrero, Méx.
9	RIFSF1	Rosal invernadero.	San Francisco, Villa Guerrero, Méx.
10	RIFSF2	Rosal invernadero.	San Francisco, Villa Guerrero, Méx.
11	GIRR1	Gerbera invernadero.	Rancho Los Reyes, Villa, Guerrero, Méx.
12	RIRR1	Rosal invernadero.	Rancho Los Reyes, Villa, Guerrero, Méx.
13	RIRR2	Rosal invernadero.	Rancho Los Reyes, Villa, Guerrero, Méx.

Análisis de la resistencia a benomyl

Para este fin se realizaron bioensayos utilizando el método de la medición del diámetro de la colonia en un medio de cultivo modificado con fungicida, propuesto por Anónimo (1982).

Preparación del medio con fungicida

De la formulación comercial de benomyl (Benlate^{MR}) considerando la cantidad de ingrediente activo, se hicieron soluciones base que se diluyeron e incorporaron al medio de cultivo de acuerdo a las concentraciones planeadas en cada bioensayo. El producto se agregó al medio antes de la última esterilización, ya que el principio activo no se degrada con la temperatura (Yoder *et al.*, 1986.) En el medio de cultivo enmendado con fungicida y al centro de la caja petri, se colocó un disco de 6 mm con crecimiento joven del hongo, obtenido de la periferia de un cultivo de 72 horas, seguido de incubación en una estufa a 22 °C por 72 horas y medición del crecimiento del diámetro de la colonia en dos ejes, para cada una de las concentraciones.

Concentración efectiva 50 y 95 (CE₅₀ y CE₉₅.)

Para este fin primeramente se estimó la ventana biológica de cada una de las cepas, es decir, se detectó la concentración máxima posible que permitiera casi el 100 % de crecimiento del hongo y la concentración mínima posible que casi inhibiera el 100 % de crecimiento.

Después se dejaron las concentraciones más representativas y se incluyeron otras entre el 40 y 60 % de inhibición. En todas las cepas se puso un testigo sin fungicida con cuatro repeticiones para cada concentración.

Análisis estadístico

Este se realizó mediante el análisis PROBIT-SAS, de ahí se obtuvo la CE_{50} y CE_{95} . También se utilizó la prueba de comparación de dos poblaciones independientes para conocer si esas concentraciones son iguales o diferentes. Se calculó el factor de resistencia (FR) dividiendo la concentración de la cepa de campo (cepas colectadas en Villa Guerrero), entre la concentración de la cepa sensible menos uno.

Resistencia al thiabendazol

En este caso se seleccionaron seis cepas (Cuadro 3), incluyendo el aislamiento sensible. Se utilizó la misma metodología que para benomyl, sólo que el ingrediente activo se obtuvo de la formulación comercial Tecto 60^{MR}.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Medio de cultivo y su pH

El medio de cultivo donde mejor creció *B. cinerea* fue el PDA y en consecuencia fue el que se utilizó en los bioensayos. La modificación del pH del medio al agregar benomyl no fue significativa.

Colecta del material

Las trece cepas colectadas fueron muy representativas, tanto la sensible como las de Villa Guerrero, toda vez que la resistencia fue muy variada entre todas ellas, lo cual permitió mejores comparaciones.

Aislamiento e identificación del patógeno

Por la rápida esporulación del hongo, tanto la siembra de pétalos como de conidios fueron muy buenos. Todas las cepas se identificaron como *Botrytis cinerea*, de acuerdo a Jarvis (1977). No hubo sectores de crecimiento distintos en cada uno de los aislamientos, lo cual indica que los cultivos monospóricos conservaron la pureza genética.

Análisis de la resistencia a benomyl

El método propuesto por Anónimo (1982) resultó eficiente en este estudio, sin embargo, se notó que cuando se medía el diámetro de las cepas después de los cinco días, las diferencias no eran claras respecto a cada una de las concentraciones, probablemente porque el fungicida se hidrolizaba, de ahí la importancia de hacer las lecturas a los tres días. La preparación del medio con fungicida fue

adecuada, siempre y cuando la siembra se hiciera tan pronto como se enfriara el medio del cultivo con el fungicida, pues cuando los discos con el patógeno se transferían después de cinco horas de preparado el medio, los efectos de las concentraciones fueron menos contrastantes.

La concentración efectiva 50 (CE_{50}) de cada una de las cepas se obtuvo mediante el análisis PROBIT. Para la cepa sensible colectada en Santa Catarina, Texcoco e identificada con la clave RSSC1, la CE_{50} fue de 0.055 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de benomyl en PDA. Este resultado está muy por abajo de lo que reportan Northover y Matteoni (1986) y Johnson *et al.* (1993), quienes opinan que los aislamientos que no crecen a 5 y 10 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, se consideran sensibles. Este mismo parámetro para los aislamientos de Villa Guerrero tuvo una amplitud desde 250.59 hasta 831.68 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, evidenciando la alta resistencia del hongo al producto en esta zona (Cuadro 2). Esta cifras superan a lo reportado por Beever y O'Flaherty (1985), quienes consideran a la susceptibilidad en 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, bajo nivel de resistencia con CE_{50} de 4 a 6 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y alto nivel de resistencia con CE_{50} de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Jarvis y Hargreaves (1973) encontraron cepas resistentes de *B. cinerea* que crecieron y esporularon a 1,000 $\text{mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ de benomyl. En este estudio en la ventana biológica se detectaron cepas que crecían a más de 3,000 y 4,000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, lo cual indica que en Villa Guerrero se tienen más altos niveles de resistencia que los mencionados por esos autores.

En ese mismo sentido Ossadon (1981) citado por Álvarez (1989) determinó cepas de *B. cinerea* que crecieron a una concentración de benomyl 4,000 veces mayor que la cepa sensible; en el FR del Cuadro 2 se nota que los aislamientos de Villa Guerrero necesitaron de 4,555.18 a 15,120.45 veces más la concentración de la cepa sensible para sólo inhibir el 50 % del crecimiento del hongo, lo cual confirma el alto grado de resistencia de *B. cinerea* a benomyl en esa región.

En el cuadro referido se observa que todas las cepas de Villa Guerrero son resistentes a benomyl, sin embargo, el aislamiento que menos concentración ocupó fue el que se obtuvo de flores de gerbera en el Rancho Los Reyes (GIRR1), con una CE_{50} de 250.59 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, esto se debe a que la arquitectura del cultivo de gerbera no permite altas humedades relativas como es el caso del rosal. Esa poca humedad evita grandes porcentajes de infección del patógeno, por tanto se realizan menos aplicaciones de benomyl y en consecuencia la presión de selección a genes resistentes disminuye. Caso contrario es la muestra 5 de rosal de la empresa Floravic (RIFV5), que fue la más resistente, pues obtuvo una CE_{50} de 831.68 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y un FR de 15,120.45. Este valor tan alto en resistencia se debe a las altas infecciones del patógeno ocasionadas por la humedad del cultivo y al mayor uso de benomyl en ese invernadero, que con gerbera.

CUADRO 2. Concentración efectiva 50 y 95 (CE₅₀ y CE₉₅) y el factor de resistencia (FR) de benomyl a cepas de *Botrytis cinerea*.

Cepas	CE ₅₀ µg·ml ⁻¹	FR CE ₅₀	CE ₉₅ µg·ml ⁻¹	FR CE ₉₅
RSSC1	0.055 a ^z	-	0.490 a ^z	-
GIRR1	250.59 b	4,555.18	12,241.09 b	24,980.63
GLLF2	266.58 c	4,845.90	10,883.15 c	22,209.51
RIFSF1	313.12 d	5,692.09	5,232.11 d	10,676.77
RIRR2	324.40 e	5,897.10	7,751.83 e	15,819.06
RIFV1	384.09 f	6,982.45	10,433.12 f	21,291.08
RIFV2	400.69 g	7,284.27	6,785.66 g	13,847.28
GLLF1	487.66 h	8,865.54	7,412.29 h	15,126.12
RIRR1	522.55 i	9,499.90	8,003.18 i	16,332.02
RIFV3	544.81 j	9,904.63	15,123.92 j	30,864.14
RIFV4	564.81 k	10,268.27	9,323.49 k	19,026.53
RIFSF2	680.48 l	12,371.36	11,693.86 l	23,864.02
RIFV5	831.68 m	15,120.45	18,279.08 m	37,303.24

^zConcentraciones con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de comparación de dos poblaciones independientes.

Los niveles de resistencia de un mismo sitio, o cultivo, resultaron diferentes, así, las muestras de gladiolo de La finca (GLLF1 y GLLF2), tuvieron CE₅₀ de 487.66 y 266.58 µg·ml⁻¹, respectivamente. En el Cuadro 2 se observa que esto mismo sucedió con las cepas colectadas en Floravic, en Flores de San Francisco y Rancho Los Reyes. Definitivamente, fueron los aislamientos de la empresa Floravic los que mostraron mayores valores de resistencia, ubicándose la cepa que menos concentración ocupó (RIFV1) en una CE₅₀ de 384.09 µg·ml⁻¹ y un FR de 6,982.45 y la que más concentración necesitó, en ese lugar de colecta (RIFV5), obtuvo una CE₅₀ de 831.68 µg·ml⁻¹ y un FR de 15,120.45. La cepa 5 de rosál de Floravic (RIFV5), fue a su vez la más resistente de todos los aislamientos de campo. Estas diferencias de un mismo sitio y cultivo se deben a la variabilidad genética que tiene *B. cinerea* en esa región, resultado probablemente de la presión de selección que han ejercido los fungicidas que se han aplicado para su control.

Respecto a las CE₉₅ los valores de resistencia fueron más altos, tal y como se esperaba, y todas las cepas de campo fueron resistentes respecto al aislamiento testigo. De acuerdo al método de comparación de dos poblaciones independientes, todas las cepas resultaron estadísticamente diferentes (Cuadro 2.) La cepa sensible tuvo una CE₉₅ de 0.49 µg·ml⁻¹ en tanto la menos resistente alcanzó una CE₉₅ de 12,241.09 µg·ml⁻¹ y un FR de 24,980.63, mientras que la más resistente obtuvo una CE₉₅ de 18,279.02 µg·ml⁻¹, cuyo FR fue de 37,303.24 (Cuadro 2). Los valores para inhibir el 95 % de la población, van desde 12, 241.09 hasta 18,279.02 µg·ml⁻¹ en las cepas de Villa Guerrero.

En ese mismo cuadro se muestra que el aislamiento sensible (RSSC1) de la CE₅₀, lo fue también para la CE₉₅,

con 0.055 y 0.49 µg·ml⁻¹, respectivamente. Se necesitó entonces, para inhibir el 95 % del crecimiento micelial 7.9 veces más lo requerido para inhibir el 50 % de dicho crecimiento. Para la cepa de campo que menos concentración requirió no hubo coincidencia, ya que para la CE₅₀ fue la cepa de gerbera colectada en el Rancho los Reyes (GIRR1) con 250.59 µg·ml⁻¹, mientras que para la CE₉₅, fue una de las de rosál colectada en Flores de San Francisco (RIFSF1) con 5,232.11 µg·ml⁻¹, que es 19.87 veces más alta. La cepa más resistente en la CE₅₀ fue una de las colectadas en rosál en la empresa Floravic (RIFV5) con 831.68 µg·ml⁻¹, esta misma resultó también la más resistente en la CE₉₅ con 18,279.08 µg·ml⁻¹ que es 20.9 veces la concentración de la CE₅₀. El hecho de que el aislamiento más resistente (RIFV5) coincida en los dos parámetros, señala que dicho aislamiento está bien definido genéticamente, pues mostró su estabilidad y casi su inmunidad a benomyl.

Muchas cepas que fueron resistentes requirieron concentraciones bajas en su CE₅₀, pero no fueron las más bajas en su CE₉₅. Esto es, probablemente, porque esos dos parámetros son distintos, toda vez que una población que tiene una CE₅₀ baja y una CE₉₅ alta posee más alta propensión de resistencia, en cambio, si una población tiene una CE₅₀ intermedia y su CE₉₅ se incrementa poco, su propensión de resistencia es baja.

Al investigar la frecuencia de aplicaciones de fungicidas benzimidazoles en tres invernaderos, se encontró que en promedio se realizan seis aplicaciones por mes durante nueve meses al año de algún producto de ese grupo, lo cual explica los altos niveles de resistencia por la fuerte presión de selección. También se detectó que el benomyl se usa a 750 g·ha⁻¹ de i.a., siendo que el fabricante recomienda 250. Considerando entonces que existen en la región de estudio aproximadamente 250 hectáreas de rosál y que se utilizan 1.5 kg·ha⁻¹ de producto comercial debido a que viene formulado al 50 % de benomyl, cuyo precio público es de \$336.00, arroja un costo por aplicación de \$ 504.00, lo que multiplicado por seis da \$ 3,024.00 mensuales, esto en nueve meses equivale a \$ 27,216.00 por hectárea, que sumando las 250 que hay en la zona, se tiene un gasto total de \$ 6,804,000.00, los cuales son infructuosos.

Los resultados demuestran un alto nivel de resistencia de *B. cinerea* a benomyl, esto indica que ese producto no controla a este patógeno en su concentración comercial, razón por la cual no tiene caso aplicarlo.

Análisis de la resistencia a thiabendazol

B. cinerea también presentó resistencia al thiabendazol (Cuadro 3), pues al igual que el benomyl pertenece al grupo de los benzimidazoles y ambos actúan inhibiendo la mitosis y bloqueando la síntesis de ácidos nucleicos (Davised, 1988.)

CUADRO 3. Concentración efectiva (CE_{50} y CE_{95}), y el factor de resistencia (FR) de thiabendazol a cepas de *Botrytis cinerea*.

Cepas	CE_{50} mg·ml ⁻¹	F.R. CE_{50}	CE_{95} mg·ml ⁻¹	FR CE_{95}
RSSC1	0.028 a ^z	-	0.327 a ^z	-
RIFV4	88.51 b	3,160.00	5,149.25 b	1,5745.94
RIVSF2	90.99 c	3,248.64	7,135.80 c	21,821.01
GLLF2	91.76 c	3,276.14	2,830.00 d	8,653.43
RIFSF1	92.57d	3,305.07	10,839.00 e	33,146.78
RIFV5	129.96 e	4,640.42	9,448.00 f	28,892.91

^zConcentraciones con la misma letra en la misma columna son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de comparación de dos poblaciones independientes.

En la CE_{50} de cada una de las cepas, se nota que todos los aislamientos de Villa Guerrero probados, son resistentes al thiabendazol y que a excepción de la cepa 2 de gladiolo de la Finca (GLLF2) y de la muestra 2 de Flores de San Francisco (RIFSF2), todas son estadísticamente diferentes, incluyendo la cepa sensible. También se encontró que todas las cepas estudiadas necesitaron cantidades menores de thiabendazol que de benomyl, para inhibir el 50 % de la población (Cuadro 3), lo cual se debe a que este último producto es mucho más utilizado que el thiabendazol contra este patógeno.

La cepa sensible a benomyl tuvo una CE_{50} de 0.055 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, en cambio la CE_{50} de thiabendazol fue de 0.028 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, 50 % más baja (Cuadro 2 y 3), esto no indica que el thiabendazol sea mejor que el benomyl, ya que cada producto tiene su concentración determinada de acuerdo a sus características propias. En ambos fungicidas la cepa más resistente fue la muestra cinco colectada en Floravic (RIFV5), esto confirma que existe resistencia positiva para benomyl y thiabendazol en la región florícola de Villa Guerrero (Cuadro 2 y 3.)

La CE_{95} de la cepa sensible requirió 10.67 veces la concentración de la CE_{50} (Cuadro 3), o sea, se necesitan 10 veces más la concentración de la CE_{50} para inhibir el 95 % del crecimiento radial del hongo. Al igual que en benomyl, no hubo correspondencia directa entre el incremento de la CE_{50} y la CE_{95} .

CONCLUSIONES

El aislamiento de *Botrytis cinerea* de Santa Catarina, Texcoco, fue susceptible a benomyl y thiabendazol.

Todas las cepas colectadas en Villa Guerrero, resultaron altamente resistentes a benomyl, así mismo, las cinco cepas de ese lugar que se probaron con thiabendazol, fueron muy resistentes a este producto.

Existe una relación directa entre la resistencia a los productos y la frecuencia de aplicación de éstos.

LITERATURA CITADA

- ÁLVAREZ, M. A. 1989. Resistencia a los fungicidas, fundamentos y aspectos prácticos, pp. 125-138. *In: Fungicidas y Nematicidas, Avances y Aplicabilidad*. B. Latorre, G. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago de Chile, Chile.
- ANÓNIMO, 1982. Recommended method for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. Detection and measurement of fungicides resistance. Method No. 24-30. FAO Ant. Prot. Bull. 30: 36-71.
- BEEVER, R. E.; O'FLAHERTY, B. F. 1985. Low-level resistance to benzimidazole in *Botrytis cinerea*, in New Zeland. *New Zeland Journal of Agricultural Research* 15: 52-57.
- BOLLEN, G. L.; SCHOLTEN, G. 1971. Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in cyclamen. *Neth. J. Plant Pathol.* 77: 83-90.
- COLEY-SMITH, J. R. 1980. *The Biology of Botrytis*. Academic Press. New York. USA. pp.142-144.
- DAVISED, C. L. 1988. Benzimidazole fungicides: mechanism of action and Resistance, pp 25-27. *In: Fungicides Resistance in North America*. Delp. J Ch. Ed. American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota, USA.
- ECKERT, J. W. 1988. Historical development of fungicide resistance in plant pathogens, pp. 1-3. *In: Fungicides Resistance in North America*. Delp, J. Ch. Ed. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.
- JARVIS, W. R.; HARGREAVES, A. J. 1973. Tolerance to benomyl in *Botrytis cinerea* and *penicillium corymbifenum*. *Plant Pathol.* 22: 139-141.
- JARVIS, W. R. 1975. Tolerance of *Botrytis cinerea* and rose powdery mildew to benomyl. *Plant. Dis.* 55: 44-49.
- JARVIS, W. R. 1977. *Botryotinia and Botrytis* Species. Taxonomy, Physiology and Pathogenicity; a Guide Literature. Department of Agriculture. Ottawa, Canada. pp. 77-78.
- JOHNSON, K. B.; SWATTER T. L.; POWELSON, M. L. 1993. Frequency of benzimidazole and dicarboximides resistant strains of *Botrytis cinerea* in Western Oregon small fruit and snap bean plantings. *Plant. Dis.* 78: 572-577.
- MOORMAN, G. W.; LEASE, J. L. 1992. Benzimidazole and dicarboximide resistant *Botrytis cinerea* from Pennsylvania Greenhouses. *Plant Sis.* 76: 477-480.
- NORTHOVER, J.; MATTEONI, J. A. 1986. Resistance of *Botrytis cinerea* to benomyl and iprodiona in vineyards and greenhouses after exposure to the fungicides alone or mixed with captan. *Plant. Dis.* 70: 398-402.
- VAN TUYL, J. M. 1977. Genetics of fungal resistant to systemic fungicides. *Meded. Landb. Hogesh. Wageningen* 77: 121-137.
- YODER, K. S.; DAVIS A. E.; HADLEY, B. A. 1986. Monitoring resistance to benomyl in *Venturia inaequalis*, *Monilinia* spp., *Cercospora* spp. and selected powdery mildew, pp. 123-132. *In: Methods for Evaluating Pesticides for the Control Plant Pathogens*. K.D. Hickey, ed. APS. Press. St. Paul, Minnesota, USA.