

EFECTO DE FUNGICIDAS INHIBIDORES DE LA FORMACIÓN DE LA BETA-TUBULINA SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Sclerotium rolfsii*

Effect of Inhibitor of β -tubulin fungicides on the *in vitro* control of *Sclerotium rolfsii*

Julissa Zambrano-Zambrano¹, Luis Santos-Ponce², Galo Cedeño-García³, Ángel Cedeño-Sacón⁴, Carlos Sornoza-Zambrano⁵, Sergio Vélez-Zambrano⁶

RESUMEN

La pata seca del fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una enfermedad causada por el hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de fungicidas que afectan la mitosis y división celular (benzimidazoles y tiofanatos) utilizando diferentes dosis de 1, 10, 100, 1000 ppm. El experimento fue realizado en el laboratorio de Biología Molecular de la ESPAM MFL, Calceta-Manabí. Las variables evaluadas fueron porcentaje de inhibición (24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 h), número de esclerocios y viabilidad de esclerocios; para la sensibilidad *in vitro* se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con 16 tratamientos con 4 repeticiones; la comparación de medias fue realizada con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los fungicidas, carbendazim, benomyl, metil-tiofanato y tiabendazol en todas sus dosis no fueron efectivos en la inhibición del hongo bajo condiciones *in vitro*, así como en la viabilidad de los esclerocios, lo que indica la posibilidad de la existencia de resistencia por parte de este fitopatógeno a los fungicidas inhibidores de la formación de beta-tubulina.

Palabras clave: fitopatógeno, sensibilidad, fungicida, inhibición.

ABSTRACT

Southern blight in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a disease caused by the plant pathogen fungus *Sclerotium rolfsii*. The objective of this research was to determine the effect of fungicides that affect mitosis and cell division (benzimidazoles and thiophanates) using different doses of 1, 10, 100, 1000 ppm. The experiment was carried out in the Molecular Biology laboratory of ESPAM MFL, Calceta-Manabí. The variables evaluated were percentage of inhibition (24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 h), number of sclerotia and viability of sclerotia; For *in vitro* sensitivity, a completely randomized experimental design was used, with 16 treatments with 4 repetitions; The comparison of means was performed with the Tukey test ($p < 0.05$). The fungicides, carbendazim, benomyl, thiophanate-methyl and thiabendazole, in all their doses were not to be effective in controlling the fungus under *in vitro* conditions, as well as in the viability of sclerotia, which indicates the possibility of the existence of resistance on the part of this phytopathogen to the fungicide inhibitors of the formation of beta-tubulin.

Keywords: phytopathogen, sensitivity, fungicide, inhibition.

¹ Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Ecuador.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-9370-9492>. julissasa.zambrano@espm.edu.ec

² Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-5224-9137>. luis.santos@espm.edu.ec

³ Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0927-5807>. gcedeno@espm.edu.ec

⁴ Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7589-3611>. acedeno@espm.edu.ec

⁵ Ecuador. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7589-3611>. csornoza@dragrosa.com

⁶ Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Ecuador.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3785-7457>. smvelez@espm.edu.ec

INTRODUCCIÓN

El fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas de grano con mayor importancia en la dieta de las personas, la población mundial depende de ella como fuente de alimento por su alto contenido de vitaminas, minerales, carbohidratos, proteínas y compuestos polifenólicos (González-Martínez et al., 2025). En el litoral ecuatoriano el cultivo de *P. vulgaris*, es una práctica realizada principalmente por pequeños y medianos productores (Eileen et al., 2024), siendo su producción orientada a la actividad de consumo propio y comercialización en el mercado local, representa un alimento base, de fácil acceso de las familias rurales (Vargas et al., 2025). Se encuentra cultivado en varias provincias entre ellas: Pichincha, Tungurahua, Cotopaxi, Azuay, Chimborazo, Bolívar, Cañar, Carchi, Imbabura y Loja. Las variedades locales identificadas como más importantes son: centenario, rocha, canario del Chota, rojo del valle y canario guarandeño (FAO, 2018). Sin embargo, su producción ha disminuido drásticamente, en el año 2022, donde se obtuvo 14 662.43 toneladas, mientras que en el 2023 la superficie cosechada comprende 19 653 ha, alcanzando un rendimiento de 12 971.77 toneladas (FAOSTAT, 2025).

Las enfermedades de origen fúngico constituyen uno de los principales componentes que disminuyen la cantidad y calidad en producción de fréjol (Abdelaziz et al., 2023; Wendland et al., 2018), debido a que esta fabácea presenta susceptibilidad ante el ataque de enfermedades fungosas en el proceso de crecimiento y de producción del cultivo (Różewicz et al., 2021). Así mismo, la temperatura, humedad relativa y características de suelo son factores clave para estimular el ciclo de infección (Okon et al., 2025).

Entre todas las enfermedades, la marchitez o pata seca genera un problema importante de mortalidad en los cultivos de leguminosas, provocada por varios hongos entre los que se destaca *Sclerotium rolfsii* (Jia et al., 2023), que puede afectar a diferentes variedades de *Phaseolus vulgaris* (Félix-Gastélum et al., 2024), ocasionando síntomas (Le et al., 2020), signos como la presencia de lesiones necróticas en la base del tallo con crecimiento micelial blanco y esclerocios esféricos de color marrón, que inducen el marchitamiento y posteriormente la muerte de las plantas (Kumari et al., 2023) puede llegar a causar pérdidas económicas significativas hasta de 70% en suelos infestados con este hongo (Meena et al., 2024). En la actualidad el control químico y las prácticas agronómicas siguen

siendo los métodos principales para controlar la enfermedad (Petrović et al., 2024).

Con la finalidad de disminuir el impacto ocasionado por este hongo fitopatógeno, varias estrategias de manejo son realizadas (Chirinos et al., 2020), entre las que el uso de fungicidas es considerado una de las prácticas más rutinaria (Gasratova y Pashkova, 2024). A pesar de esto, en los últimos años se ha evidenciado que los fungicidas se aplican según las indicaciones del producto (Bosamia et al., 2020), se estima que las dosis recomendadas son muy altas (Ortega et al., 2023), por tanto, han disminuido su eficacia frente a *S. rolfsii*, lo que podría estar asociado a situaciones de resistencia por parte del fitopatógeno (Islam et al., 2024).

Con este fundamento, esta investigación fue planteada con el objetivo de determinar la eficacia de fungicidas inhibidores de la formación de la beta-tubulina sobre *S. rolfsii* lo que a futuro contribuirá en el diseño de estrategias en el control de este hongo fitopatógeno de una forma más adecuada y sustentable, visando el uso correcto de fungicidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de la zona de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Biología Molecular, Investigación y Vinculación de la carrera de Ingeniería Agrícola de la ESPAM MFL, ubicado en sitio “El Limón” del Cantón Bolívar situado geográficamente entre las coordenadas 00° 49' 23" Latitud Sur, 80° 11' 01" Longitud Oeste a 15 m s.n.m. (Estación meteorológica de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”), Manabí, Ecuador. Tuvo una duración de seis meses.

Metodología

Obtención de aislamientos

Tallos de plantas de fréjol que presentaban síntomas y signos (esclerocios y micelio) de *S. rolfsii*, fueron visualizadas en campo, posteriormente, se cortaron con un cuchillo estéril (alcohol 70%) y fueron colocados dentro de una funda de papel para su respectivo traslado al laboratorio, donde se adicionó agua en cantidad suficiente con la finalidad de limpiar los tallos y separar cualquier residuo no deseado; los tejidos fueron colocados en cámaras húmedas para inducir a la formación de esclerocios, que fueron extraídos y

colocados en solución de hipoclorito de sodio al 1% durante un minuto, una vez realizada la desinfección se colocaron en cajas de Petri (90 mm Ø) con medio PDA enriquecido con antibiótico ampicilina y fueron sellados con cinta plástica, hasta su posterior uso.

Fungicidas

Los fungicidas empleados perteneciente al grupo químico benzimidazoles fueron BENOCOR® WP benomil 500 g kg⁻¹; RODAZIM® 500SC carbendazim 500 g L⁻¹; NOVAK® 500 thiofanato metil 500 g L⁻¹; MERTECT® 500 tiabendazol 500 g L⁻¹ (ingrediente activo procedentes de diferentes casas comerciales reconocidas y vigentes en Ecuador). Las concentraciones evaluadas se establecieron a partir de la dosis de producto comercial en adjunto de etiqueta expresadas en partes por millón (ppm). Es importante contar con ensayos que puedan validar las concentraciones subletales indicadas por el fabricante y las concentraciones inhibitorias mínimas, para evitar que especies fitopatógenas generen resistencia (Ashby et al., 2023).

Test *in vitro* de fungicidas

Se utilizó la técnica de medio de cultivo contaminado con fungicidas. El ensayo estuvo conformado por 16 tratamientos, resultantes de la combinación de 4 dosis (1 000, 100, 10 y 1 ppm) y 4 fungicidas inhibidores de la formación de la beta-tubulina (benomyl, carbendazim, tiabendazol, y metil tiofanato), las dosis se incorporaron asépticamente por separado en cada frasco con PDA autoclavado (120 °C/15minutos). En cada caja de Petri se añadió los discos con crecimiento micelial de *S. rolfsii* de 5 días de crecimiento, en el centro de la caja, finalmente se las embaló y rotuló en la parte superior, se almacenaron a temperatura de 27±30 °C.

Se utilizó un diseño al azar (DCA), conformado de 16 tratamientos y 4 repeticiones, teniendo como resultado 64 unidades experimentales. No existe tratamiento testigo, porque el mismo fue usado para realizar la prueba de eficacia, detallada de forma explícita más adelante.

Variables respuestas

Porcentaje de inhibición: se evaluó una vez obtenido el crecimiento radial. Se calculó los valores medios de Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) con la siguiente fórmula de eficacia de Abbott (1925).

$$E = \frac{R1-R2}{R1} \cdot 100 \quad (1)$$

Dónde: E = eficacia; R1 = diámetro del testigo; R2 = diámetro del tratamiento.

Número de esclerocios: se evaluó a los 40 días después de la siembra, una vez emitidos los esclerocios, se contabilizaron con la ayuda de una pinza metálica en su respectiva unidad experimental.

Viabilidad de esclerocios: en los esclerocios producidos a los 40 días después de la siembra, se clasificaron con tamaño y forma uniformes, se procedió a cultivar 10 esclerotes por caja en 10 mL de medio de cultivo PDA para determinar su viabilidad. Se usaron 4 réplicas por cada tratamiento. Se evaluó el desarrollo del micelio (viabilidad) en los esclerocios germinados (esclerocios que produjeron al menos tejido hifal) registrándose cada 24 horas expresado en porcentaje.

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza y para realizar las comparaciones múltiples entre las medias se utilizó la prueba de Tukey al 5% de probabilidades de error. Para el análisis de datos se utilizó el software Infostat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de inhibición

El análisis de varianza de porcentaje de inhibición, a las 24, 48, 72 horas mostró que existen diferencias estadísticas significativas ($p = 0.0001$) para las fuentes de variación estudiadas; factor fungicidas, dosis y la interacción (Tabla 1). De forma más detallada se puede describir que a las 24 horas, el fungicida benomil y la dosis más alta (1 000 ppm), analizados de forma separada y como interacción presentaron el mayor porcentaje de inhibición de *S. rolfsii* (62.50%).

Para la evaluación efectuada a las 48 horas, de forma similar a la medición anterior, se destacó benomil para el factor fungicidas y 1 000 ppm en el factor dosis, conjuntamente la interacción dada por estos dos niveles consiguió el mayor porcentaje de inhibición del hongo con 48.14%. Continuando con el último análisis (72 horas), los fungicidas benomil y metil-tiofanato obtuvieron los valores más altos de control con 13.97 y 13.57, respectivamente, al igual que en las descripciones anteriores, la dosis más

alta fue más eficaz en la disminución del crecimiento fungíco, a su vez la interacción benomil/1 000 ppm ejerció mayor sensibilidad *in vitro* en esta evaluación.

Sin embargo, a partir de las 96 horas los fungicidas, dosis y su interacción evaluados son estadísticamente similares para la variable porcentaje de inhibición (Tabla 1). Esto demuestra que los productos fitosanitarios empleados no ejercieron un efecto de control sobre el crecimiento y producción de *S. rolfsii* en relación al tiempo (Figura 1 y 2). En lo que respecta a el número de esclerocios producidos durante los 40 días después de la siembra, no presentan diferencias significativas. Además, se probó que todos los tratamientos presentan esclerocios viables (100%) (Figura 3).

Tabla 1. Análisis de varianza del PICR y número de esclerocios producidos, a partir de aislados *S. rolfsii* tratados con fungicidas inhibidores de la formación de la beta-tubulina, a diferentes dosis bajo condiciones *in vitro*.

Variables	Fungicidas (A)	Dosis (B)	Interacción (A*B)
% Inhibición 24h	**	**	**
% Inhibición 48h	**	**	**
% Inhibición 72h	**	**	**
% Inhibición 96h	NS	NS	NS
% Inhibición 120h	NS	NS	NS
Número de esclerocios	NS	NS	NS
Viabilidad	NS	NS	NS

NS = no hay significancia (probabilidad > 0.05); ** alta significancia (probabilidad < 0.05).

Los resultados obtenidos en esta investigación son equivalentes a los De Marcano et al. (2005), donde el número de esclerocios formados disminuyó en los tratamientos que se utilizó 2 500 ppm de benomyl *in vitro*. La Tabla 2, muestra la comparación estadística de la actividad inhibitoria de fungicidas sobre *S. rolfsii* a diferentes concentraciones.

Tabla 2. Comparación estadística de la actividad inhibitoria de fungicidas sobre *S. rolfsii* a diferentes concentraciones.

Descripción	Porcentaje de inhibición (24 horas)	Porcentaje de inhibición (48 horas)	Porcentaje de inhibición (72 horas)
Fungicidas (A)			
Benomyl	31.66±28.57 a	23.40±11.67 a	13.97±5.72 a
Metil tiofanato	31.39±28.57 a	19.68±11.67 b	13.57±5.72 a
Tiabendazol	29.89±28.57 a	18.82±11.67 b	10.71±5.72 b
Carbendazim	16.17±28.57 b	11.90±11.67 c	6.38±5.72 c
Dosis (B)			
1 000 ppm	39.27±28.57 a	30.05±11.67 a	22.99±5.72 a
100 ppm	23.91±28.57 b	16.16±11.67 b	9.87±5.72 b
10 ppm	24.86±28.57 b	14.49±11.67 b	8.08±5.72 b
1 ppm	21.06±28.57 b	13.10±11.67 b	3.71±5.72 c
Interacción Ax B			
Benomyl/1 000 ppm	62.50±28.57 a	48.14±11.67 a	36.25±5.72 a
Benomyl/100 ppm	14.68±28.57 e	7.44±11.67 g	3.21±5.72 ef
Benomyl/10 ppm	31.52±28.57 bcde	25.57±11.67 bcd	13.22±5.72 c
Benomyl/1 ppm	17.94±28.57 e	12.77±11.67 efg	3.21±5.72 ef
Metil tiofanato/1 000 ppm	38.59±28.57 bcd	26.86±11.67 bc	20.54±5.72 b
Metil tiofanato/100 ppm	44.02±28.57 ab	27.13±11.67 bc	23.93±5.72 b
Metil tiofanato/10 ppm	20.11±28.57 de	6.91±11.67 g	3.75±5.72 def
Metil tiofanato/1 ppm	22.83±28.57 cde	17.82±11.67 def	6.07±5.72 def
Tiabendazol/1 000 ppm	40.22±28.57 bc	30.85±11.67 b	21.43±5.72 b
Tiabendazol/100 ppm	24.46±28.57 cde	14.36±11.67 efg	9.11±5.72 cd
Tiabendazol/10 ppm	27.72±28.57 bcd	18.35±11.67 cde	8.75±5.72 cde
Tiabendazol/1 ppm	27.18±28.57 bcd	11.70±11.67 efg	3.57±5.72 def
Carbendazim/1 000 ppm	15.76e±28.57 e	14.36±11.67 efg	13.75±5.72 c
Carbendazim/100 ppm	12.50e±28.57 e	9.04±11.67 fg	3.22±5.72 ef
Carbendazim/10 ppm	20.11±28.57 de	14.10±11.67 efg	6.61±5.72 def
Carbendazim/1 ppm	16.30±28.57 e	10.10±11.67 efg	1.96±5.72 f

Valores con letras distintas muestran diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Soto et al. (2011) y Zhou et al. (2016), reportan que benomyl es un fungicida sistémico ampliamente utilizado en la agricultura, su acción es interferir en la síntesis de ADN y la mitosis impidiendo así la penetración del micelio y la germinación de esporas. La descripción expuesta demuestra la evidente resistencia de *S. rolfsii* a benomyl que a pesar de haber inhibido hasta un 62.75% durante las primeras 24 horas; su efectividad disminuyó al pasar los días de

evaluación, datos que coinciden con los publicados por Manzo et al. (2012), que al utilizar el fungicida benomyl en *Mycosphaerella fijiensis* presenta la capacidad de crecer a una dosis de 10 ppm. Resultados opuestos describen Pérez et al. (2015) y Tenesaca (2010), donde reportan que *Sclerotium cepivorum* muestra sensibilidad a benomyl; y describe a benomyl y metil tiofanato como productos controladores de primer nivel a *Sclerotinia sclerotiorum* con dosis inferiores a 1 ppm.

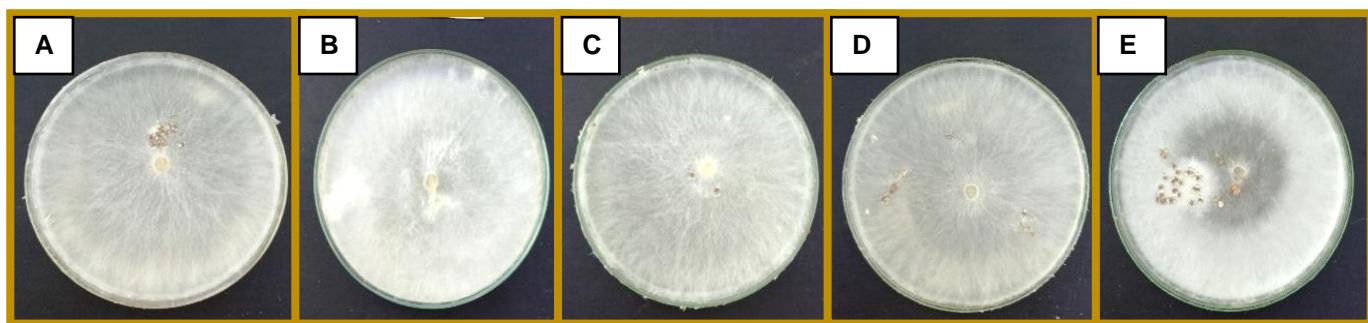


Figura 1. Sensibilidad *in vitro* de fungicidas sobre el crecimiento de *S. rolfsii* a las 216 horas después de la inoculación a concentración de 1 000ppm: Testigo (A); tratamiento con Benomyl (B); Metil tiofanato (C); Carbendazim (D); Tiabendazol (E).

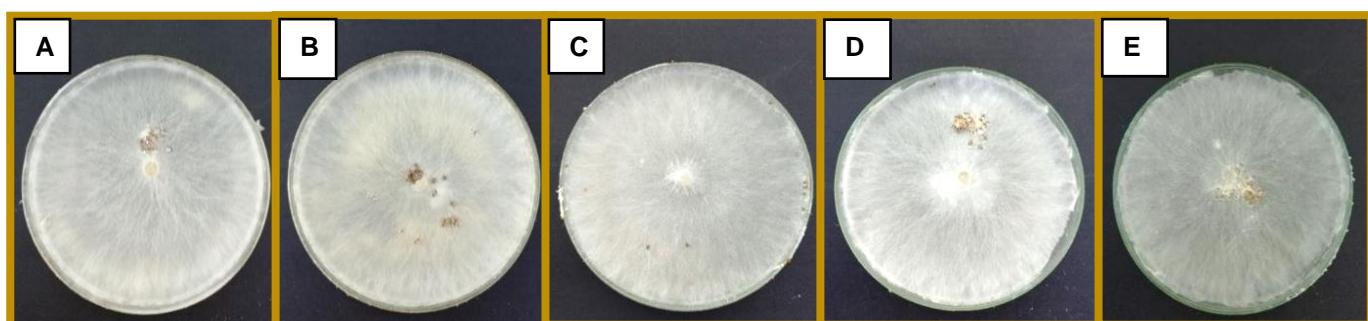


Figura 2. Producción de esclerocios a los 40 días de tratamiento en medio de cultivo con fungicidas. Testigo (A); Benomyl 100 ppm (B); Metil tiofanato 1 000 ppm (C); Carbendazim 1 ppm (D); Tiabendazol 1 ppm (E).

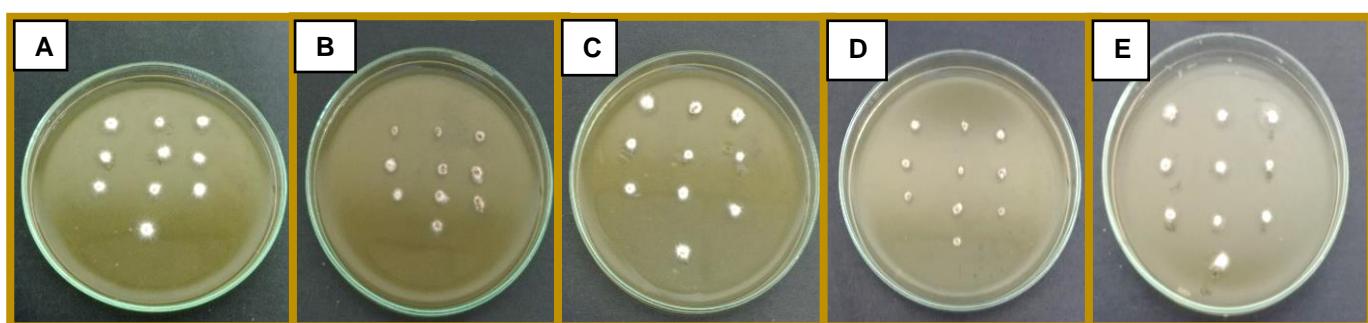


Figura 3. Viabilidad de esclerocios en medio PDA evaluado las 24 horas después de la inoculación. Testigo (A); Benomyl 1 ppm (B); Metil tiofanato 1 ppm (C); Carbendazim 10 ppm (D); Tiabendazol 10 ppm (E).

Continuando con el análisis, tiabendazol fue el siguiente fungicida más efectivo; además su eficiencia es diferente de benomyl, a 1 000 ppm. El fitopatógeno no es sensible a tiabendazol, únicamente atrasa el crecimiento micelial y disminuye la producción de

escleritos. Datos opuestos encontró (García et al., 2020) donde este fungicida presenta acción inhibitoria sobre *Sclerotinia sclerotiorum* en concentraciones inferiores a 1 ppm en condiciones controladas.

De manera similar los fungicidas metil tiofanato y carbendazim dieron como resultado una reducción menor al 40% sobre el crecimiento del fitopatógeno, cuando se usa concentraciones de 1 000, 100, 10 y 1 ppm; desde las 24 horas hasta las 72 horas, en las evaluaciones posteriores (96, 120, 144 y 216 horas) los tratamientos no impidieron el crecimiento del patógeno. Estos resultados coinciden a los reportados por Arce et al. (2019) quienes determinaron pruebas de sensibilidad a fungicidas benomyl, carbendazim y metil tiofanato sobre *Bipolaris* sp., *Colletotrichum* sp. y *Mycoleptodiscus* sp., aquellos no inhibieron totalmente en el crecimiento de las cepas evaluadas durante el ensayo; unas con 0% y otras de ellas con porcentajes inferiores a 53%.

Los antifúngicos empleados ejercieron efecto parcial de inhibición a las primeras 72 horas, luego de esto ningún benzimidazol (benomyl, carbendazim y tiabendazol) o tiofanato, impidió el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* durante el ensayo. Según FRAC (2019), a pesar de que los benzimidazoles, específicamente interfieren en el ensamblaje de b-tubulina en el proceso de la mitosis, este grupo presenta riesgos elevados de forjar resistencia por varias especies de fitopatógenos incluso dentro de la misma (Nocua-Báez et al., 2020), el control de la resistencia está establecido por el riesgo específico del fungicida, hongo y cultivo. McGrath (2004), afirma que al utilizar fungicidas con alteraciones en dosis y consecutivas aplicaciones el hongo fitopatógeno desarrolla resistencia.

Tal como ha sido observado en los datos obtenidos en este estudio, la resistencia de diferentes hongos a fungicidas que afectan la división celular y la mitosis (benzimidazoles y tiofanatos) no es un hecho aislado, que ha sido relatado desde hace mucho tiempo hasta la actualidad (González et al., 2022; Sun 2010; Koenraadt et al., 1992), por ejemplo, aislados de *Venturia* y *Dydimella* han demostrado resistencia frente al fungicida benomil, asociada a mutaciones genéticas en el gen de la β -tubulina (Koenraadt et al., 1992), sin embargo no es el único caso de fitosanitarios dentro de este grupo químico que presenta casos de resistencia; aislados de *Botrytis cinerea* obtenidos a partir de cereales y *Giberella zaeae* proveniente de trigo, demostraron ser resistentes al carbendazim en diferentes ensayos de sensibilidad realizados (Myresiotis et al., 2007; Qiu et al., 2012).

Otra de las moléculas que no consiguió inhibir el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* en este ensayo bajo

condiciones *in vitro* fue el tiabendazol, casos similares han sido relatados por (Baraldi et al., 2003), que indican adicionado al medio de cultivo y que al analizarse molecularmente las secuencias se reportan mutaciones en el gen de la beta-tubulina (Cabañas et al., 2009).

De la misma forma, al realizar un análisis minucioso de lo acontecido en base a los casos de resistencia a que aislados de *Penicillium expansum* fueron resistentes a altas concentraciones de tiabendazol fungicidas en hongos, se puede enfatizar que se han encontrado aislados de *Colletotrichum* spp. con niveles de resistencia, desde moderada a alta al fungicida metil-tiofanato y que esta resistencia está asociada a mutaciones en el gen de la beta-tubulina (Vieira et al., 2017; Wu et al., 2022); a su vez, en un estudio desarrollado en California con aislados de *Botrytis cinerea* provenientes de uva, pistacho y granada, revelan que existe un cambio del ácido glutámico por alanina en la posición 198 en las secuencias de β -tubulina (Avenot et al., 2020). También, en esta misma posición de la β -tubulina, aislados de *Colletotrichum siamense* sufrieron modificaciones y su crecimiento fue inhibido en más del 50%, con dosis de 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Hu et al., 2015).

La aplicación de fungicidas es la estrategia más utilizada para controlar la podedumbre del tallo (Behiry et al., 2022), sin embargo el uso intensivo de estos, especialmente los que son específicos en su modo de acción, pueden seleccionar aislados resistentes (Toda et al., 2021) y generar mutaciones que ocasiona la resistencia de benzimidazoles (Appiah et al., 2023), una vez que se desarrolla resistencia a un fungicida específico, existe la posibilidad de que se produzca resistencia cruzada entre todos los miembros del mismo grupo de fungicidas (Brent, 1995).

El benomil, la carbendazim, el tiabendazol y el tiofanato-metil, fueron los primeros fungicidas sistémicos de sitio único y la primera clase química afectada por la rápida evolución de la resistencia (Hawkins y Fraaije, 2016), en consecuencia causa fallos en el control de enfermedades. La diversidad genética del fitopatógeno es uno de los factores que hacen ineficiente a los fungicidas químicos (González et al., 2022). Los hongos fitopatógenos están experimentando cambios sustanciales como resultado de nuevos hallazgos, pocas especies identificadas se ha evaluado mediante metodologías de genética molecular, y algunas regiones siguen dependiendo de una taxonomía obsoleta. Además, *S. rolfsii* parece estar expandiendo rápidamente su distribución geográfica,

probablemente como resultado del cambio climático, lo que provoca alteraciones genéticas y cambios en las redes huésped-patógeno establecidas desde hace tiempo. Esto se refleja en el hecho de que se están descubriendo nuevos patógenos en leguminosas que previamente se sabía que causaban enfermedades en esa especie. *S. rolfsii* se ha encontrado recientemente en frijol mungo, causando la enfermedad del tizón sureño (Patra et al., 2023). Por lo tanto, la evolución de la resistencia a los fungicidas se ha convertido en una preocupación significativa a nivel mundial (Wang, 2022). De aquí la importancia del empleo de enfoques novedosos y amigables con el ambiente para controlar enfermedades en las plantas, mitigar pérdidas y garantizar una producción alimentaria segura.

Los mecanismos detrás de los resultados observados aún deben evaluarse, bajo condiciones de campo para demostrar firmemente que los benzimidazoles evaluados no tienen efecto sobre el fitopatógeno. Este estudio amplía conocimiento sobre el impacto de los fungicidas sobre *Sclerotium rolfsii* y abre nuevas vías para la gestión razonada del uso de fungicidas en el control de hongos fitopatógenos, limitando al mismo tiempo su impacto. También muestra las estrategias de supervivencia de las colonias de hongos en condiciones controladas.

CONCLUSIONES

El hongo *Sclerotium rolfsii* de aislados de fréjol bajo condiciones *in vitro*, no fue afectado por los fungicidas inhibidores de la formación de la beta-tubulina, tales como benomyl, carbendazim, metil-tiofanato y tiabendazol, bajo las dosis de 1, 10, 100, 1 000 ppm. Es así, indispensable buscar alternativas sostenibles sobre *S. rolfsii* como estrategias de control para evadir el uso persistente e ineficiente de fungicidas que generan resistencia sobre patógenos que afectan al cultivo de fréjol.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide (en línea). J. econ. Entomol 18(2):265-67. Disponible en <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Abdelaziz, AM; El-Wakil, DA; Hashem, AH; Al-Askar, AA; Abd, H; Attia, MS. 2023. Efficient role of endophytic *Aspergillus terreus* in biocontrol of *Rhizoctonia solani* causing Damping-off disease of *Phaseolus vulgaris* and *Vicia faba* (en línea). Microorganisms, 11(6):1487. Disponible en <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061487>

- Appiah, F; Akorli, J; Okyere, L; Sagoe, K; Osabutey, D; Cappello, M; Wilson, MD. 2023. The effect of single dose albendazole (400 mg) treatment on the human gut microbiome of hookworm-infected Ghanaian individuals (en línea). Scientific Reports 13(1):1-11. Disponible en <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38376-3>
- Arce, C; Varela, I; Torres, S. 2019. Inhibición del crecimiento micelial de hongos asociados a antracnosis en ñame (*Dioscorea alata*) (en línea). Agronomía Mesoamericana 30(2):381-393. Disponible en <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Ashby, E; Nicholson, A; Haag, T. 2023. The role of plant agricultural practices on development of antimicrobial resistant fungi affecting human health (en línea). E. Ashby, A. Nicholson, T. Haag (eds.); The Nation. National Academies Press. Disponible en <https://doi.org/10.17226/26833>
- Avenot, HF; Morgan, DP; Quattrini, J; Michailides, TJ. 2020. Resistance to Thiophanate-Methyl in *Botrytis cinerea* Isolates from Californian Vineyards and Pistachio and Pomegranate Orchards (en línea). Plant Disease 104(4):1069-1075. Disponible en <https://doi.org/10.1094/pdis-02-19-0353-re>
- Bosamia, TC; Dodia, SM; Mishra, GP; Ahmad, S; Joshi, B; Thirumalaisamy, PP; Kumar, N; Rathnakumar, AL; Sangh, C; Kumar, A; Rhankappan, R. 2020. Unraveling the mechanisms of resistance to *Sclerotium rolfsii* in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using comparative RNA-Seq analysis of resistant and susceptible genotypes (en línea). PLOS ONE 15(8):e0236823. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236823>
- Baraldi, E; Mari, M; Chierici, E; Pondrelli, M; Bertolini, P; Pratella, G. 2003. Studies on thiabendazole resistance of *Penicillium expansum* of pears: Pathogenic fitness and genetic characterization (en línea). Plant Pathology 52(3):362-370. Disponible en <https://hal.inrae.fr/hal-02623266v1>
- Behiry, SI; Al-Askar, AA; Soliman, SA; Alotibi, FO; Basile, A; Abdelkhalek, A; Elsharkawy, MM; Salem, MZM; Hafez, EE; Heflich, AA. 2022. Plantago lagopus extract as a green fungicide induces systemic resistance against Rhizoctonia root rot disease in tomato plants (en línea). Frontiers in Plant Science 13. Disponible en <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.966929>
- Bosamia, TC; Dodi, SM; Mishr, GP; Ahmad, S; Joshi, B; Thirumalaisam, PP; Kumar, N; Rathnakuma, AL; Sangh, C; Kumar, A; Thankappan, R. 2020. Unraveling the mechanisms of resistance to *Sclerotium rolfsii* in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using comparative RNA-Seq analysis of resistant and susceptible genotypes (en línea). PLOS ONE 15. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236823>
- Brent, KJ. 1995. Fungicide resistance in crop pathogens: ¿how can it be managed? GIFAP.
- Cabañas, R; Castellá, G; Abarca, M; Bragulat, M; Cabañas, F. 2009. Thiabendazole resistance and mutations in the beta-tubulin gene of *Penicillium expansum* strains isolated from apples and pears with blue mold decay (en

- línea). FEMS Microbiol Lett 297(2):189-95. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01670.x>
- Chirinos, D; Castro, R; Cun, J; Castro, J; Peñarrieta, S; Solis, L; Geraud-Pouey, F. 2020. Los insecticidas y el control de plagas agrícolas: la magnitud de su uso en cultivos de algunas provincias de Ecuador (en línea). Ciencia y Tecnología Agropecuaria 21(1):84–99. Disponible en http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-87062020000100084&lang=en%0Ahttp://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v21n1/0122-8706-ccta-21-01-00084.pdf
- De Marcano, A; Vargas, N; Pire, A. 2005. Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial in vitro de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola* (en línea). Rev. Fac. Agron 22(4):315-324. Disponible en https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182005000400001
- Eileen, N; Cosmas, L; Nyamolo, V. 2024. Common bean entrepreneurial development in Sub-Saharan Africa (en línea). The Pan African Bean Research Alliance and the Alliance of Bioversity International and CIAT. Disponible en <https://cgospace.cgiar.org/server/api/core/bitstreams/63056b84-06d3-4837-893d-b8644f15d043/content>
- FRAC (Comité de Acción de Resistencia a Fungicidas). 2019. Sustancias activas fungicidas según el modo de acción (en línea). Disponible en <https://www.syngenta.es/sites/g/files/zhg516/f/2019/04/clasificacion-fungicidas-bactericidas-segun-modo-accion.pdf>
- FAO. 2018. Legumbres, pequeñas semillas, grandes soluciones (en línea). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en <https://www.fao.org/3/ca2597es/CA2597ES.pdf>
- FAOSTAT. 2025. On line database (en línea). Disponible en <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>
- Félix-Gastélum, R; Herrera-Rodríguez, G; Ávila-Aistac, N; León, E. 2024. *Sclerotinia sclerotiorum* on bean and potato in Sinaloa: etiology, epidemiology and alternatives for management (en línea). Mexican Journal of Phytopathology. Disponible en <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v42n3/2007-8080-rmfi-42-03-RMEXFIT24046-en.pdf>
- García, KTF; Estepa, DCS; Leal, LCS. 2020. Alternativas de manejo biológico de la pudrición producida por *Sclerotinia sclerotiorum* en cultivos de lechuga en el municipio de Cota, Cundinamarca en las veredas Parcelas, La Moya y Pueblo Viejo. 26p.
- Gasratova, N; Pashkova, D. 2024. Application of a modified mathematical model “consumer - resource” to justify the periods of treatment of potato late blight with fungicides (en línea). E3S Web of Conferences, 486. Disponible en <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202448603012>
- González-Martínez, DW; Casas-Rodríguez, AD; Coronado-Contreras, SA; Flores-Gallegos, AC; López-Badillo, CM; Ascacio-Valdés, JA; Flores-Naveda, A; Sepúlveda, L. 2025. Valorization of Black Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) for the Extraction of Bioactive Compounds Using Solid-State Fermentation (en línea). Waste 3(2):13. Disponible en <https://doi.org/10.3390/waste3020013>
- González-Oviedo, N; Iglesias-Andreu, L; Flores-de la Rosa, F; Rivera-Fernández, A; Luna-Rodríguez, M. 2022. Genetic analysis of the fungicide resistance in *Fusarium oxysporum* associated to *Vanilla planifolia* (en línea). Revista Mexicana de Fitopatología 40(3):330-348. Disponible en <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2203-3>
- Hu, MJ; Grabke, A; Dowling, M; Holstein, J; Schnabel, G. 2015. Resistance in *Colletotrichum siamense* from peach and blueberry to thiophanate-methyl and azoxystrobin (en línea). Plant Disease, 99(6):806–814. Disponible en <https://doi.org/10.1094/pdis-10-14-1077-re>
- Hawkins, NJ; Fraaije, BA. 2016. Predicting resistance by mutagenesis: Lessons from 45 years of MBC resistance (en línea). Frontiers in Microbiology 7. Disponible en <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01814>
- Islam, T; Danishuddin, NT; Matin, MN; Barai, HR; Haque, MA. 2024. Resistance mechanisms of plant pathogenic fungi to fungicide, environmental impacts of fungicides, and sustainable solutions (en línea). Plants 13(19). Disponible en <https://doi.org/10.3390/plants13192737>
- Jia, S; Song, C; Dong, H; Yang, X; Li, X; Ji, M; Chu, J. 2023. Evaluation of efficacy and mechanism of *Bacillus velezensis* CB13 for controlling peanut stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* (en línea). Frontiers in Microbiology 14: 1–15. Disponible en <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1111965>
- Koenraadt, H; Somerville, SC; Jones, AL. 1992. Characterization of mutations in the Beta-Tubulin Gene of Benomyl-Resistant field strains of *Venturia inaequalis* and other plant pathogenic fungi (en línea). Phytopathology 82(11):1348. Disponible en https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/bac_kissues/Documents/1992Articles/Phyto82n11_1348.pdf
- Kumari, P; Gupta, RNM; Sah, SB; Prasad, S. 2023. Evaluation of fungicides against *Sclerotium rolfsii* incitant of collar rot disease of chickpea (en línea). Annals of Plant Protection Sciences 31(2):42–45. Disponible en <https://doi.org/10.5958/0974-0163.2023.00021.6>
- Le, Z; Gaudin, J; Robledo-Garcia, F; Cosson, P; Hastoy, C; Rolin, D; Schurdi-Levraud, V. 2020. First report of *Sclerotium* stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* on *Stevia rebaudiana* in southwestern France (en línea). Plant Disease 2(2):584-584. Disponible en <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0696-PDN>
- Manzo, S; Carrillo, H; Guzmán, G; Orozco S. 2012. Análisis de la sensibilidad in vitro de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la sigatoka negra del banano a los fungicidas benomyl, propiconazol y azoxystrobin (en línea). Revista Mexicana de Fitopatología 30:81-85. Disponible en https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092012000100008
- McGrath, M.T. 2004. ¿Qué son los fungicidas? (en línea). Trans. Luisa Santamaría, José Carlos Ureta R., 2014. The Plant Health Instructor. Disponible en <https://www.apsnet.org/edcenter/Pages/fungicidesSpanish.aspx>

- Myresiotis, C; Karaoglanidis, G; Tzavella-Klonari, K. 2007. Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetable crops to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, hydroxyanilide, benzimidazole, and dicarboximide fungicides (en línea). Plant Disease 91(4):407-413. Disponible en <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-4-0407>
- Meena, PN; Meena, AK; Tiwari, RK; Lal, MK; Kumar, R. 2024. Biological control of stem rot of groundnut induced by *Sclerotium rolfsii* sacc (en línea). Pathogens 13(8). Disponible en <https://doi.org/10.3390/pathogens13080632>
- Nocua-Báez, LC; Uribe-Jerez, P; Tarazona-Guaranga, L; Robles, R; Cortéz, J. 2020. Azoles de antes y ahora: una revisión Azoles of then and now: a review (en línea). Rev Chilena Infectol 37(3). Disponible en <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182020000300219>
- Okon, OG; Uwaide, YI; Rhouma, A; Antia, UE; Okon, JE; Archibong, BF. 2025. Unraveling the biology, effects and management methods of *Sclerotium rolfsii* infection in plants for sustainable agricultura (en línea). European Journal of Biological 15(1):1-10. Disponible en <https://doi.org/10.5281/zenodo.15288417>
- Ortega, G; Demera Á; Villao, A; Morán, JM; Plúa, AÁ; Ramírez, HF; Gabriel-Ortega, J. 2023. Pesticide use by farmers in Puerto La Boca, Manabí. A reflection on its possible consequences (en línea). J. Selva Andina Biosph 11(1):47-65. Disponible en https://magazine.sars.org.bo/index.php/jsab/article/vie_w/259/313
- Patra, GK; Acharya, GK; Panigrahi, J; Mukherjee, AK; Rout, GR. 2023. The soil-borne fungal pathogen Athelia rolfsii: past, present, and future concern in legumes (en línea). Folia Microbiologica, 68(5):677-690. Disponible en <https://doi.org/10.1007/s12223-023-01086-4>
- Pérez, L; Belmonte, J; Núñez, H; Mendoza, B; Guzmán, R. 2015. Sensibilidad de especies de *Sclerotinia* spp. y *Sclerotium cepivorum*. a agentes de control biológico y fungicidas (en línea). Revista Mexicana de Fitopatología 33:256-267. Disponible en https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000200256
- Petrović, E; Vrandečić, K; Čosić, J; Godena, S. 2024. Chemical control of olive fungal diseases: strategies and risks (en línea). Poljoprircreda 1:44-53. Disponible en <https://hrcak.srce.hr/file/459587>
- Qiu, J; Huang, T; Xu, J; Bi, C; Chen, C; Zhou, M. 2012. β -Tubulins in Gibberella zeae: their characterization and contribution to carbendazim resistance (en línea). Pest Management Science 68(8):1191–1198. Disponible en <https://doi.org/10.1002/ps.3283>
- Różewicz, M; Wyzińska, M; Grabiński, J. 2021. The most important fungal diseases of cereals—problems and possible solutions (en línea). Agronomy 11(4). Disponible en <https://doi.org/10.3390/agronomy11040714>
- Soto, K; Flores, L; Brabosa, G; Sabanero, M. 2011. Citocalasina y benomil: aspectos químicos y biológicos (en línea). CHEMISTRY 3(1):11-17. Disponible en <http://www.naturalezaytecnologia.com/index.php/nyt/article/viewFile/37/pdf1>
- Sun, H; Wang, H; Chen, Y; Li, H; Chen, C; Zhou, M. 2010. Multiple resistance of *Botrytis cinerea* from vegetable crops to carbendazim, diethofencarb, procymidone, and pyrimethanil in China (en línea). Plant Disease 94(5):551-556. Disponible en <https://doi.org/10.1094/pdis-94-5-0551>
- Tenesaca, A. 2010. Dosis letales in vitro de cuatro fungicidas químicos en el control de la pudrición basal de la lechuga producida por *Sclerotinia sclerotiorum* de Bary (en línea). Tesis. Universidad de Cuenca. Disponible en <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3040/1>tag287.pdf>
- Toda, M; Beer, KD; Kuivila, KM; Chiller, TM; Jackson, BR. 2021. Trends in agricultural triazole fungicide use in the United States, 1992-2016 and possible implications for antifungal-resistant fungi in human disease (en línea). Environmental Health Perspectives 129(5). Disponible en <https://doi.org/10.1289/EHP7484>
- Vieira, W; Lima, W; Nascimento, E; Michereff, S; Reis, A; Doyle, V; Câmara, M. 2017. Thiophanate-methyl resistance and fitness components of *Colletotrichum musae* isolates from banana in Brazil (en línea). Plant Disease 101(9):1659-1665. Disponible en <https://doi.org/10.1094/pdis-11-16-1594-re>
- Vargas, JC; Perdomo, GRÁ; León, RPP; Navarrete, RAT. 2025. Análisis de sostenibilidad y resiliencia económica en pequeños agricultores de Quevedo, Los Ríos, Ecuador (en línea). Revista Científica PENTACIENCIAS 7(3):100-106. Disponible en <https://doi.org/https://orcid.org/0000-0002-0488-6764>
- Wendland, A; Murillo, J; Faria, J. 2018. Manual de identificação das principais doenças do feijoeiro comum (en línea). Brasília, DF.: Embrapa. Disponible en <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes-/publicacao/1102266/manual-de-identificacao-das-principais-doencas-do-feijoeiro-comum>
- Wu, J; Hu, S; Ye, B; Hu, X; Xiao, W; Yu, H; Zhang, C. 2022. Diversity and Resistance to Thiophanate-Methyl of *Colletotrichum* spp. in Strawberry Nursery and the Development of Rapid Detection Using LAMP Method (en línea). Agronomy 12(11). Disponible en <https://doi.org/10.3390/agronomy12112815>
- Wang, X. 2022. Characterization of *Corynespora cassiicola* resistance to the quinone outside inhibitor fungicides, elucidation of fitness parameters, and defining alternative fungicide product strategies in Mississippi soybean. Mississippi State University. Disponible en <https://scholarsjunction.msstate.edu/td/5450/>
- Zhou, Y; Xu, J; Zhu, Y; Duan, Y; Zhou, M. 2016. Mechanism of Action of the Benzimidazole Fungicide on *Fusarium graminearum*: Interfering with Polymerization of Monomeric Tubulin But Not Polymerized Microtubule (en línea). Phytopathology 106(8):807-13. Disponible en <https://doi.org/10.1094/phyto-08-15-0186-r>

Artículo recibido en: 10 de marzo del 2025

Aceptado en: 19 de agosto del 2025