

Eficacia de diferentes fungicidas en el control de la mole húmeda del champiñón (agente causal: *Mycogone perniciosa*)

F. J. GEA, M. C. LAINEZ, M. J. NAVARRO

Se realizaron ensayos *in vitro* e *in vivo* con varios fungicidas (carbendazima, iprodiona, procloraz-Mn, tiabendazol y metil-tiofanato) para valorar su efecto sobre *Mycogone perniciosa*, agente causal de la mole húmeda del champiñón. Los experimentos *in vitro* mostraron que procloraz-Mn ($ED_{50} = 0,006-0,064 \mu\text{g ml}^{-1}$) y carbendazima ($ED_{50} = 0,031-0,097 \mu\text{g ml}^{-1}$) fueron los fungicidas más eficaces para inhibir el crecimiento micelial de *M. perniciosa*, mientras que iprodiona ($ED_{50} = 1,90-3,80 \mu\text{g ml}^{-1}$) fue el menos eficaz. Los factores de resistencia calculados para los cinco fungicidas se situaron entre 1,4 y 2, lo que sugiere que hay muy poco riesgo de que *M. perniciosa* desarrolle resistencia a los fungicidas ensayados. La eficacia *in vivo* de los fungicidas se estudió en dos ensayos de cultivo de champiñón, que fueron artificialmente infectados con dos dosis de *M. perniciosa*, 10^6 y 10^7 esporas m^{-2} , respectivamente. Todos los fungicidas mostraron un elevado grado de eficacia (96,5-100,0%) con la dosis de inóculo más baja. Sin embargo, con la dosis más elevada, iprodiona registró una eficacia menor (20,5-24,4%) que el resto de fungicidas (88,7-100,0%).

F. J. GEA, M. J. NAVARRO. Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón (CIES), Apdo. 63, 16220 Quintanar del Rey (Cuenca).
M. C. LAINEZ. IES Amparo Sanz. Albacete.

Palabras clave: carbendazima, iprodiona, procloraz, tiabendazol, metil-tiofanato.

INTRODUCCIÓN

La mole húmeda, causada por el hongo micoparásito *Mycogone perniciosa* (Magnus) Delacroix, es una enfermedad del champiñón [*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach] que también se desarrolla sobre otras especies de *Agaricales*. A pesar de su distribución mundial no suele causar importantes pérdidas en los cultivos de champiñón (FLETCHER Y GAZE, 2008), aunque recientemente ha originado serios problemas en algunos países como Serbia (GLAMOCLIJA *et al.*, 2008) y Sudáfrica (MEYER Y KORSTEN, 2008). *M. perniciosa* esporula abundantemente sobre los cuerpos fructíferos de *Agaricus*, produciendo conidios de paredes delgadas parecidos a los de *Verticillium* y

clamidosporas bicelulares esféricas de color oscuro y pared gruesa, con una célula apical verrugosa y una célula basal de pared delgada (HOLLAND Y COOKE, 1990). Este micoparásito afecta la morfogénesis de los basidiomas de *A. bisporus*, formando masas deformes de tejido sin ningún signo de diferenciación. Inicialmente las moles húmedas son esponjosas y de color blanco, virando posteriormente al color oscuro. Ocasionalmente pueden exudar sobre su superficie gotas de líquido color ámbar debido a la putrefacción bacteriana que se produce en su interior (Figura 1). Al corte, se puede observar que las masas deformes muestran áreas oscuras justo debajo de la superficie exterior del esporóforo. A veces, los síntomas causados por *M. perniciosa* son parecidos a los



Figura 1. Aspecto de una mole húmeda con exudado de líquido color ámbar

ocasionados por *Verticillium fungicola* (Preuss) Hassebrauk [recientemente clasificado como *Lecanicillium fungicola* (Preuss) Zare & W. Gams (ZARE Y GAMS, 2008)], por lo que la presencia de la mole húmeda puede quedar enmascarada por la mole seca. La mezcla de cobertura siempre ha sido considerada como la principal fuente de contaminación de *M. perniciosa*, por lo que es particularmente importante asegurar que los materiales de cobertura estén limpios y almacenados en un área segura, sin riesgos de terminar contaminados por polvo o restos procedentes de otras naves de cultivo (FLETCHER Y GANNEY, 1968). *M. perniciosa* puede ser diseminado por el agua de riego, al igual que *V. fungicola*, pero a diferencia de éste, las esporas no son pegajosas, por lo que las moscas y los recolectores tienen menos importancia en su diseminación.

La aparición de la mole húmeda en los cultivos de champiñón españoles ha sido esporádica durante los últimos veinte años. Hasta ahora, el control se había realizado mediante el uso de fungicidas benzimidazoles y procloraz-Mn, prácticas culturales e higiene (FLETCHER *et al.*, 1975, 1983; GANDY Y SPENCER, 1978; GEA *et al.*, 1995). La incidencia actual de la enfermedad es baja o nula en cultivos bien conducidos, pero la mole húmeda se puede convertir en una seria amenaza para los cultivos de champiñón. De hecho, durante el otoño de 2006, se detecta-

ron fuertes ataques de mole húmeda en algunos cultivos comerciales de *A. bisporus*, lo que puso de manifiesto la necesidad de llevar a cabo un estudio con el fin de desarrollar medidas de control más eficaces y de valorar la actual sensibilidad de *M. perniciosa* a varios fungicidas, para poder determinar si se había desarrollado alguna resistencia.

Hay que tener en cuenta que la disponibilidad de fungicidas en el cultivo del champiñón está limitada no solo por estrictas regulaciones sino también por el hecho de que tanto el patógeno como el huésped son hongos. Por esta razón, en este estudio se han usado fungicidas que están autorizados en España (iprodiona y procloraz-Mn), o que han sido ampliamente utilizados en otros países europeos (carbendazima y metil-tiofanato) o en Estados Unidos (metil-tiofanato y tiabendazol). Todos estos fungicidas están incluidos en el Anexo I de la Directiva 91/414/EEC, aunque carbendazima está solo autorizada en cereales, colza, remolacha y maíz.

Por tanto, el objetivo de este estudio es determinar la sensibilidad *in vitro* de aislados de *M. perniciosa* frente a los fungicidas seleccionados y la efectividad de estos fungicidas frente a la mole húmeda en cultivos de champiñón artificialmente infectados con *M. perniciosa*. La información obtenida puede ayudar a conocer mejor cómo se desarrolla esta enfermedad, al tiempo que puede contribuir a diseñar estrategias de control más eficaces.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislados

Para los ensayos *in vitro* se utilizaron doce aislados de *M. perniciosa* recuperados de cuerpos fructíferos de *A. bisporus* que mostraron síntomas de mole húmeda. Las muestras se recogieron entre los años 2006 y 2009 en cultivos de champiñón situados en Castilla-La Mancha. Los aislados se cultivaron en medio agar-patata dextrosa (PDA) y se identificaron de acuerdo con los criterios

taxonómicos descritos por BRADY Y GIBSON (1976).

Determinación de la sensibilidad *in vitro* de *Mycogone perniciosa* a los fungicidas

Para determinar la sensibilidad *in vitro* de *M. perniciosa* a los fungicidas se utilizaron las formulaciones comerciales de las siguientes materias activas: carbendazima 50% pm (Bavisfor® 50, IQV, Mollet del Vallés, Barcelona, Spain), iprodiona 50% pm (Rovral® WP, Agrogen, Madrid, Spain), procloraz 46% pm (Sporgon®, Basf Española, Barcelona, Spain), tiabendazol 60% sc (Textar® 60-T, Tecnidex, Paterna, Valencia, Spain) y metiltiofanato 70% wg (Topsin® 70 WG, Bayer CropScience, Alcácer, Valencia, Spain).

Los fungicidas se disolvieron en agua destilada estéril y se añadieron al medio de cultivo esterilizado (agar-extracto de malta enfriado a 45-50°C), con el fin de conseguir diversas concentraciones de materia activa (entre 0,001 y 100 µg ml⁻¹). Las placas de medio con fungicida se sembraron con discos de 5 mm de diámetro, procedentes de la zona con crecimiento activo de un micelio de *M. perniciosa*. Se realizaron cuatro replicados por cada combinación de aislado y concentración fungicida. Las placas Petri se incubaron durante 12 días a 25°C en oscuridad y posteriormente se determinó el tamaño de las colonias midiendo dos diámetros perpendiculares por cada placa.

Se valoró la tasa de crecimiento micelial para cada aislado, utilizando las placas control a las que no se había añadido fungicida. A continuación, se calculó el porcentaje de inhibición (PI) del crecimiento micelial mediante la ecuación de VINCENT (1947): $PI = 100(C-T)/C$ (C = tasa de crecimiento del control; T = tasa de crecimiento en las placas tratadas con fungicida). La sensibilidad de la población de aislados de *M. perniciosa* se estimó mediante el cálculo de la ED₅₀ (µg ml⁻¹ de materia activa necesarios para inhibir el crecimiento radial al 50%). Para cada fungicida también se determinó el factor de re-

sistencia, el cual se expresa como la relación entre el valor más elevado de ED₅₀ de los aislados considerados, frente al valor medio de ED₅₀ para cada combinación de aislados-fungicida (REYNOLDS *et al.*, 1997; FRANKE *et al.*, 1998; KURT *et al.*, 2003).

Los valores de ED₅₀ se examinaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), usando el programa Statgraphics Plus 5.1 (Statistical Graphics Corp., Princeton, NJ).

Ensayos en cámaras de cultivo de champiñón

Para valorar la eficacia de los fungicidas frente a la mole húmeda en cultivos de champiñón artificialmente infectados con *M. perniciosa* se realizaron dos ciclos de cultivo en una cámara visitable Ibercex (ASL, S.A., San Fernando de Henares, Madrid, España) de dimensiones 3,70 × 2,10 × 2,60 m (20,2 m³), provista de sistemas de humidificación, calefacción/refrigeración, y recirculación/ventilación exterior, que permite el control automático de la temperatura, la humedad relativa y la concentración de dióxido de carbono. Se utilizaron cubetas de 16 l de volumen y una superficie de 870 cm², cada una de las cuales se llenó con 6 kg de compost. La variedad comercial de micelio de *Agaricus bisporus* utilizada fue Gurelan 45 (Gurelan S. Coop., Huarte, Pamplona), a una tasa de siembra del 1% en peso fresco del compost. La capa de cobertura aplicada estaba formada por una mezcla de suelo mineral y turba rubia en proporción 4:1 (v/v), que es la habitual en el sector productor de Castilla-La Mancha. En cada cubeta se depositó una capa de 30 mm de espesor y 2,6 l de volumen.

Se realizaron dos ensayos (A y B), que diferían en la concentración de esporas usada como tasa de inoculación para cada ensayo: 10⁶ esporas m⁻² en el ensayo A y 10⁷ esporas m⁻² en el ensayo B. La inoculación se llevó a cabo dos días después de realizar la cobertura, aplicando una suspensión de esporas de *M. perniciosa* sobre la superficie de ésta, a razón de 10 ml por cubeta. El

inóculo de *M. pernicioso* se preparó el mismo día en que se realizó la inoculación. La concentración de cada suspensión de esporas se determinó mediante un hematocitómetro. Cada suspensión se diluyó en agua estéril hasta conseguir una concentración de $8,7 \times 10^3$ esporas ml^{-1} (ensayo A) y $8,7 \times 10^4$ esporas ml^{-1} (ensayo B). Las cubetas control recibieron 10 ml de agua estéril.

Se utilizaron formulaciones comerciales de los siguientes fungicidas: carbendazima, iprodiona, tiabendazol y metil-tiofanato al 0,1% (p/v) y procloraz al 0,05% (p/v). Se añadieron en riego, disueltos en agua, a razón de 100 ml por cubeta. Para cada fungicida se realizaron dos tratamientos y seis repeticiones por tratamiento. El primer tratamiento (I) se efectuó el mismo día de la cobertura (día 0), es decir, dos días antes de llevar a cabo la inoculación con esporas de *M. pernicioso*. El segundo tratamiento (II) se aplicó el quinto día después de la cobertura, 3 días después de la inoculación. A las cubetas control se les añadieron 100 ml de agua.

Durante las tres primeras floradas, se anotaron los datos correspondientes al número y peso de los champiñones recogidos en cada uno de los tratamientos aplicados. Los champiñones recolectados se clasificaron como sanos o infectados por *M. pernicioso*. La incidencia de la enfermedad se calculó como un porcentaje, basada en la relación entre el número

total de champiñones enfermos frente al número total de champiñones (sanos y enfermos). La eficacia de los fungicidas se valoró mediante la fórmula de ABBOTT (1925): % eficacia = $[(I_c - I_t)/I_c] \times 100$ (donde I_c = incidencia de la enfermedad en el control; I_t = incidencia de la enfermedad en el tratamiento).

El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con seis repeticiones. Los datos de eficacia total se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), previa transformación $\arcsin\sqrt{x/100}$.

RESULTADOS

Determinación de la sensibilidad *in vitro* de *M. pernicioso* a los fungicidas

En la Tabla 1 se presentan los valores medios de ED_{50} de los fungicidas seleccionados y los factores de resistencia de doce aislados de *M. pernicioso*. El fungicida que inhibió el crecimiento *in vitro* de *M. pernicioso* con más eficacia fue procloraz-Mn (ED_{50} media = 0,029 $\mu\text{g ml}^{-1}$), seguido por carbendazima (ED_{50} media = 0,065 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Por el contrario, los valores de ED_{50} más elevados se obtuvieron con iprodiona (ED_{50} media = 2,678 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Los factores de resistencia calculados fueron relativamente bajos, oscilando entre 1,42 para iprodiona y 2,44 para metil-tiofanato.

Tabla 1. Valores de ED_{50} de los fungicidas seleccionados y factores de resistencia de los aislados de *Mycogone pernicioso* recolectados entre los años 2006 y 2009 en España

| Fungicida | Aislados | ED_{50} ($\mu\text{g ml}^{-1}$) | | Factor de resistencia ^b |
|-----------------|----------|-------------------------------------|-------------|------------------------------------|
| | | Media ^a | Rango | |
| Carbendazima | 12 | 0,065 a | 0,031-0,097 | 1,49 |
| Iprodiona | 12 | 2,678 c | 1,897-3,805 | 1,42 |
| Procloraz-Mn | 12 | 0,029 a | 0,006-0,064 | 2,20 |
| Tiabendazol | 12 | 0,225 a | 0,155-0,335 | 1,49 |
| Metil-tiofanato | 12 | 0,773 b | 0,298-1,884 | 2,44 |

^a Medias en columna seguidas por distinta letra indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey HSD, al nivel $P = 0,05$.

^b El factor de resistencia se expresa como la relación entre el valor más elevado de ED_{50} de los aislados considerados, frente al valor medio de ED_{50} para cada combinación de aislados-fungicida.

La distribución de frecuencias de los valores de ED_{50} mostró que el 100% de los aislados de *M. pernicioso* eran muy sensibles ($ED_{50} < 0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$) a los fungicidas carbendazima, procloraz-Mn y tiabendazol, presentando diferencias significativas con los valores de ED_{50} de iprodiona y metil-tiofanato. Los valores de ED_{50} para iprodiona oscilaban entre 1,897 y 3,805 $\mu\text{g ml}^{-1}$, por lo que todos los aislados resultaron débilmente resistentes a este fungicida ($ED_{50} = 1-10 \mu\text{g ml}^{-1}$). Por último, los valores de ED_{50} para metil-tiofanato también mostraron un amplio rango (0,298-1,884 $\mu\text{g ml}^{-1}$), con dos aislados débilmente resistentes ($ED_{50} > 1 \mu\text{g ml}^{-1}$), y los otros diez sensibles ($ED_{50} < 1 \mu\text{g ml}^{-1}$).

Ensayos en cámaras de cultivo de champiñón

En la Tabla 2 se muestra la efectividad de los cinco fungicidas ensayados para controlar la mole húmeda en dos ciclos de cultivo de *A. bisporus* infectados artificialmente con dos dosis de inóculo de *M. pernicioso* diferentes (10^6 y 10^7 esporas m^{-2}). En los dos ensayos realizados únicamente se observó como síntoma típico de mole húmeda, la presencia de masas de tejido deformes sin ningún signo de diferenciación (Figura 2). En el ensayo A, los primeros síntomas se registraron 18 días después de la inoculación de la mezcla de cobertura (Día 20), coincidiendo con los primeros champiñones. En el ensayo B, los primeros síntomas de mole húmeda se observaron 17 días después de la inoculación de la cobertura (Día 19), y los primeros champiñones se cosecharon un día después (Día 20).

Los resultados obtenidos en el ensayo A no presentaron diferencias significativas en cuanto a la efectividad entre los tratamientos fungicidas aplicados. En el control inoculado, el peso total de moles húmedas recogido

ascendió a 6,33 kg m^{-2} , con una incidencia del 29,06% de la cosecha total (30,6% en la primera florada, 37,4% en la segunda y 42,2% en la tercera). En el control no inoculado la incidencia de la mole húmeda fue del 0% a lo largo del ciclo de cultivo. Por otro lado, los tratamientos fungicidas con más moles húmedas, es decir, los menos eficaces, fueron el de carbendazima I (0,51 kg m^{-2} , 2,27%) e iprodiona I (0,35 kg m^{-2} , 1,79%). Por el contrario, la efectividad fue del 100% a lo largo de todo el ciclo de cultivo para los tratamientos procloraz-Mn II, tiabendazol y metil-tiofanato aplicados antes y después de la inoculación.

En el ensayo B, se apreciaron diferencias significativas en la efectividad total entre iprodiona (I y II) y el resto de tratamientos ensayados. En el control inoculado, el peso total de moles húmedas recogido ascendió a 19,92 kg m^{-2} , con una incidencia del 89,0% de la cosecha total (61,7% en la primera florada, 59,0% en la segunda y 68,89% en la tercera). En el control no inoculado la incidencia fue del 0,0% en las dos primeras floradas y del 1,96% en la tercera. Por otro lado, los tratamientos fungicidas con más moles húmedas fueron iprodiona I (13,90 kg m^{-2} , 64,20%) e iprodiona II (13,85 kg m^{-2} , 65,65%), que demostraron ser los menos efectivos a lo largo de todo el ciclo de cultivo. Por el contrario, con los fungicidas carbendazima y metil-tiofanato aplicados después de la inoculación se consiguió un 100% de efectividad. En el resto de tratamientos, se puede ver como la efectividad disminuye conforme avanza el ciclo de cultivo. Para un mismo fungicida, no se observaron diferencias significativas entre la aplicación previa a la inoculación con *M. pernicioso* (día 0) y la aplicación posterior (día 5). En líneas generales, el tratamiento que presentó una mayor efectividad en los dos ensayos fue metil-tiofanato aplicado después de la inoculación con *M. pernicioso*.

Tabla 2. Eficacia (%) de los fungicidas carbendazima, iprodiona, procloraz-Mn, tiabendazol y metil-tiofanato en el control de *Mycogone perniciosa* en dos ciclos de cultivo de *A. bisporus* infectados artificialmente con el patógeno

| Fungicida y momento de aplicación | Ensayo A (10 ⁶ esporas m ⁻²) | | | | Ensayo B (10 ⁷ esporas m ⁻²) | | | |
|-----------------------------------|---|----------------------|----------------------|-------|---|----------------------|----------------------|--------------------|
| | 1. ^a flor | 2. ^a flor | 3. ^a flor | Total | 1. ^a flor | 2. ^a flor | 3. ^a flor | Total ^a |
| Carbendazima I | 97,4 | 99,2 | 89,7 | 97,8 | 100,0 | 100,0 | 92,9 | 97,6 b |
| Iprodiona I | 100,0 | 91,3 | 100,0 | 96,5 | 56,6 | 27,2 | 4,9 | 20,5 a |
| Procloraz-Mn I | 98,3 | 98,3 | 100,0 | 98,8 | 99,2 | 96,7 | 96,6 | 98,1 b |
| Tiabendazol I | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 97,7 | 94,6 | 74,7 | 92,6 b |
| Metil-tiofanato I | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 98,1 | 94,8 | 97,9 b |
| Carbendazima II | 100,0 | 99,4 | 100,0 | 99,7 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 b |
| Iprodiona II | 98,5 | 97,6 | 100,0 | 98,9 | 69,4 | 8,5 | 6,8 | 24,4 a |
| Procloraz-Mn II | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 97,1 | 87,8 | 97,0 b |
| Tiabendazol II | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 94,4 | 91,0 | 80,9 | 88,7 b |
| Metil-tiofanato II | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 b |

^a Medias en columna seguidas por distinta letra indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey HSD, al nivel P = 0,05.



Figura 2. Aspecto de una cubeta de ensayo con varias moles húmedas

DISCUSIÓN

Los experimentos *in vitro* mostraron que procloraz-Mn y carbendazima eran los fungicidas más efectivos para inhibir el crecimiento de *M. perniciosa*, mientras que iprodiona era el menos efectivo. POTOČNIK *et al.* (2008) obtuvieron resultados parecidos con aislados de *M. perniciosa* de Serbia: valores de ED₅₀ por debajo de 0,008 mg l⁻¹ para procloraz-Mn, y 0,46 y 4,08 mg l⁻¹ para benomilo e iprodiona, respectivamente. Los valores de ED₅₀ y factores de resistencia obtenidos (Tabla I) indicaron que existe un riesgo muy bajo de que *M. perniciosa* desarrolle resistencia a los fungicidas ensayados (REYNOLDS *et al.*, 1997; FRANKE *et al.*, 1998; KURT *et al.*, 2003).

La concentración de inóculo usada en la inoculación de la mezcla de cobertura en el ensayo A (10⁶ esporas m⁻²) estaba situada dentro de los rangos considerados como aceptables para la experimentación con hongos micopatógenos de champiñón (MAMOUN Y OLIVIER, 1995). Sin embargo, la escasa manifestación de la mole húmeda hizo que estos resultados fueran inconsistentes en lo que a control de la enfermedad se refiere, no observándose diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Por el contrario, en el ensayo B, con una tasa de inóculo más elevada (10⁷ esporas

m⁻²), sí hubo una mayor manifestación de la enfermedad, lo que permitió establecer diferencias significativas entre los tratamientos. Este último ensayo puso de manifiesto la escasa eficacia de la iprodiona frente al resto de fungicidas, lo que está en concordancia con los valores de ED₅₀ obtenidos en los experimentos *in vitro*.

Los datos recogidos en nuestros ensayos detectaron una leve disminución de eficacia durante la tercera florada en los tratamientos con carbendazima I, tiabendazol I y II, procloraz-Mn II y metil-tiofanato I. Esta pérdida de eficacia de los fungicidas a lo largo del ciclo de cultivo de champiñón ha sido estudiada por varios autores. FLETCHER *et al.* (1980) indicaron que una falta de control del patógeno del champiñón mediante benomilo (benomilo y metil-tiofanato se transforman en carbendazima) estaba asociada con la desaparición del fungicida de la cobertura antes de que empezara la cosecha, debido a la presencia en la mezcla de cobertura de bacterias capaces de degradar el benomilo. Posteriormente, GROGAN Y JUKES (2003) demostraron que la concentración de carbendazima en la parte superior de la capa de cobertura descendía rápidamente al final de la segunda florada, por lo que podía ser menos eficaz en la tercera florada, mientras que la concentración de tiabendazol permanecía elevada durante el periodo de cosecha, descendiendo hacia el día 35 después de la cobertura. En cuanto al procloraz, GROGAN Y JUKES (2003) demostraron que la concentración de procloraz desciende significativamente hacia el día 21, al final de la primera florada. Hay evidencias que sugieren que la concentración de procloraz en la capa de cobertura puede declinar significativamente durante el periodo de cultivo hasta llegar a ser menor del 20% de lo que se había aplicado, debido a que los microorganismos presentes en los materiales de cobertura son capaces de degradar la molécula de procloraz (GROGAN *et al.*, 2008).

El uso de fungicidas continúa siendo de utilidad en aquellos casos donde los patógenos todavía son sensibles, pero esto requiere

un seguimiento regular de las poblaciones del patógeno, con el fin de valorar la aparición de posibles resistencias. Aunque el riesgo de que *M. pernicioso* desarrolle resistencia a los fungicidas ensayados es muy bajo, es necesari

rio poner en práctica aquellas estrategias que reducen la incidencia de la mole húmeda, como es la estricta higiene de la explotación, ya que es imprescindible minimizar los riesgos de aparición de estas resistencias.

ABSTRACT

GEA, F. J., M. C. LAINEZ, M. J. NAVARRO. 2012. Efficacy of different fungicides for control of wet bubble disease of white-button mushroom (causal agent: *Mycogone pernicioso*). *Bol. San. Veg. Plagas*, **38**: 133-141.

Carbendazim, iprodione, prochloraz-Mn, thiabendazole and thiophanate-methyl were tested *in vitro* and *in vivo* for their effect on *Mycogone pernicioso*, the mycoparasite that causes wet bubble disease of white button mushroom. *In vitro* experiments showed that prochloraz-Mn ($ED_{50} = 0.006-0.064 \mu\text{g ml}^{-1}$) and carbendazim ($ED_{50} = 0.031-0.097 \mu\text{g ml}^{-1}$) were the most effective fungicides for inhibiting the mycelial growth of *M. pernicioso*, while iprodione ($ED_{50} = 1.90-3.80 \mu\text{g ml}^{-1}$) was the least effective. The resistance factors calculated for the five fungicides were between 1.4 and 2. The results obtained suggest that there is very little risk that *M. pernicioso* will develop resistance to the fungicides assayed. The *in vivo* efficacy of fungicides for control of wet bubble was studied in two mushroom cropping experiments, which were artificially infected with two doses of *M. pernicioso*, 10^6 and 10^7 spores m^{-2} , respectively. There was, in the low dose inoculum experiment, a very high degree of effectiveness (96.5-100.0%) with all the fungicides assayed. However, iprodione performed poorly (20.5-24.4%) compared with the other fungicides (88.7-100.0%) in the high concentration inoculum experiment.

Key words: carbendazim, iprodione, prochloraz, thiabendazole, thiophanate-methyl.

REFERENCIAS

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**: 265-267.
- BRADY, B. L. K., GIBSON, I. A. S. 1976. *Mycogone pernicioso*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria n.º 499. London, UK: Commonwealth Agricultural Bureaux.
- FLETCHER, J. T., GANNEY, G. W. 1968. Experiments on the biology and control of *Mycogone pernicioso* Magn. *Mushroom Science* **VII**: 221-237.
- FLETCHER, J. T., GAZE, R. H. 2008. *Mushroom pest and disease control*. Manson Publishing. London, UK. 192 pp.
- FLETCHER, J. T., DRAKES, G. D., TALENT, C. J. W. 1975. The control of wet bubble disease of mushrooms caused by *Mycogone pernicioso*. *Ann. Appl. Biol.* **79**: 35-41.
- FLETCHER, J. T., CONNOLLY, G., MOUNTFIELD, E. I., JACOBS, L. 1980. The disappearance of benomyl from mushroom casing. *Ann. Appl. Biol.* **95**: 73-82.
- FLETCHER, J. T., HIMS, M. J., HALL, R. J. 1983. The control of bubble diseases and cobweb disease of mushrooms with prochloraz. *Plant Pathology* **32**: 123-131.
- FRANKE, M. D., BRENNEMAN, T. B., STEVENSON, K. L., PADGETT, G. B. 1998. Sensitivity of isolates of *Sclerotium rolfsii* from peanut in Georgia to selected fungicides. *Plant Dis.* **82**: 578-583.
- GANDY, D. G., SPENCER, D. M. 1978. Fungicides for the control of *Mycogone pernicioso* (Magn.), the cause of wet bubble on the cultivated mushroom. *Scientia Horticulturae* **8**: 307-313.
- GEA, F. J., PARDO, A., NAVARRO, M. J., PARDO, J. 1995. Fungal diseases of mushroom culture from Castilla-La Mancha (Spain): incidence of *Verticillium fungicola*. En: ELLIOT, T. J. (Ed.), *Science and cultivation of edible fungi: Mushroom Science XIV*, Vol. 2. A. A. Balkema, Rotterdam, Netherlands, pp. 643-651.
- GLAMOCLJA, J., SOKOVIC, M., LJALJEVIC-GRBIC, M., VUKOJEVIC, J., MILENKOVIC, I., VAN GRIENSVEN, L. 2008. Morphological characteristics and mycelial compatibility of different *Mycogone pernicioso* isolates. *Journal of Microscopy*, **232**: 489-492.
- GROGAN, H. M., JUKES, A. A. 2003. Persistence of the fungicides thiabendazole, carbendazim and prochloraz-Mn in mushroom casing soil. *Pest Manag. Sci.* **59**: 1225-1231.

- GROGAN, H., PAPADOPOULOS, G., BENDING, G. D., WOOD, M. 2008. Microbial degradation of prochloraz in mushroom casing. En: VAN GRUENING, M. (Ed.), *Science and cultivation of edible and medicinal fungi: Mushroom Science XVII*, South African Mushroom Farmers Association, Pretoria, South Africa, pp. 364-372. (CD-ROM).
- HOLLAND, D. M., COOKE, R. C. 1990. Activation of dormant conidia of the wet bubble pathogen *Mycogone perniciosa* by Basidiomycotina. *Mycol. Res.* **94**(6): 789-792.
- KURT, S., DERVIS, S., SAHINLER, S. 2003. Sensitivity of *Verticillium dahlia* to prochloraz and prochloraz-manganese complex and control of Verticillium wilt of cotton in the field. *Crop Prot.* **22**: 51-55.
- MAMOUN, M., OLIVIER, J. M. 1995. Discussions on assessment of artificial infections with *Verticillium fungicola* for breeding programmes. En: ELLIOT, T. J. (Ed.), *Science and cultivation of edible fungi: Mushroom Science XIV*, Vol. 2. A. A. Balkema, Rotterdam, Netherlands, pp. 669-677.
- MEYER, L., KORSTEN, L. 2008. A nested PCR for the detection of *Mycogone perniciosa* causing wet bubble disease of white button mushrooms. En: VAN GRUENING, M. (Ed.), *Science and cultivation of edible and medicinal fungi: Mushroom Science XVII*, South African Mushroom Farmers Association, Pretoria, South Africa, pp. 554-564 (CD-ROM).
- POTOCNIK, I., MILJASEVIC, S., REKANOVIC, E., TODOROVIC, B., STEPANOVIC, M. 2008. Sensitivity of *Verticillium fungicola* var. *fungicola*, *Mycogone perniciosa* and *Cladobotryum* spp. to fungicides in Serbia. En: VAN GRUENING, M. (Ed.), *Science and cultivation of edible and medicinal fungi: Mushroom Science XVII*, South African Mushroom Farmers Association, Pretoria, South Africa, pp. 615-627 (CD-ROM).
- REYNOLDS, K. L., BRENNEMAN, T. B., BERTRAND, P. F. 1997. Sensitivity of *Cladosporium caryigenum* to propiconazole and fenbuconazole. *Plant Dis.* **81**: 163-166.
- VINCENT, J. M. 1947. Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. *Nature* **159**, 850.
- ZARE, R., GAMS, W. 2008. A revision of the *Verticillium fungicola* species complex and its affinity with the genus *Lecanicillium*. *Mycol. Res.* **112**: 811-824.

(Recepción: 31 enero 2012)
(Aceptación: 21 marzo 2012)