

EVALUACIÓN *in vitro* DE FUNGICIDAS BENZIMIDAZOLES HACIA *Fusarium sacchari*, PATÓGENO DE LA CAÑA DE AZÚCAR

In vitro EVALUATION OF BENZIMIDAZOLES FUNGICIDES TO *Fusarium sacchari*, PATHOGEN OF THE SUGARCANE

Yaneth Margarita López-Alcántara¹, Edgar Martínez-Fernández^{2*},
Patricia Martínez-Jaimes²

¹Maestría en Manejo de Recursos Naturales, CIB, UAEM.

²Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, C.P. 62209, Cuernavaca, Morelos, México.

*Autor para correspondencia. Correo-e: edgar@uaem.mx

RESUMEN

El hongo *Fusarium sacchari* forma parte del complejo de especies de *Fusarium* asociadas a las raíces de la caña de azúcar causantes de la necrosis de estos tejidos. Para disminuir los daños ocasionados por estos patógenos se realizan aplicaciones de fungicidas en diferentes formas en los cultivos de la caña de azúcar. Sin embargo, en México no se dispone de información del efecto de los fungicidas hacia esta especie fitopatógena y por tanto, este trabajo tuvo como objetivo evaluar la sensibilidad de *F. sacchari* a los fungicidas Benomyl, Carbendazim y Tiofanato metílico. Los fungicidas se incorporaron a medio de cultivo PDA para obtener concentraciones de 0.5, 1,

5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ppm y se evaluó *in vitro* su efecto sobre el crecimiento micelial de *F. sacchari*. Los fungicidas mostraron efecto variable en la inhibición del crecimiento de las colonias del patógeno dependiendo de las diferentes concentraciones evaluadas. El crecimiento micelial de *F. sacchari* fue inhibido completamente a las concentraciones más bajas, de 0.5 ppm de Carbendazim y de 1 ppm de Benomyl, mientras el Tiofanato metílico indujo una inhibición del 100% a la concentración de 10 ppm.

Palabras clave: Benzimidazoles, *in vitro*, *Fusarium sacchari*

ABSTRACT

Fusarium sacchari is part of *Fusarium* species complex associated with the roots of sugarcane causing necrosis of these tissues. To reduce the damage caused by these pathogens, fungicide applications are made in different ways in sugarcane crops. However, in Mexico is not available information on the effect of fungicides to this phytopathogenic species, and therefore, this work was to evaluate the sensitivity of *Fusarium sacchari* to fungicides Benomyl, Carbendazim and Thiophanate methyl, and its effect was evaluated *in vitro* on mycelial growth of *F. sacchari*. The fungicides showed a variable effect in the inhibition of the growth of the colonies of the pathogen depending on the different concentrations tested. *F. sacchari* mycelial growth was completely inhibited at lower concentrations, 0.5 ppm of Carbendazim and 1 ppm of Benomyl, while Thiophanate methyl induced a 100% of growth inhibition, to the concentration of 10 ppm.

Keywords: Benzimidazoles, *in vitro*, *Fusarium sacchari*.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es uno de los cultivos industriales más importantes en el mundo. Se utiliza principalmente para obtener azúcar y alcohol etílico que son materias primas para otros productos (Hernández, 2014). Este cultivo crece en todas las regiones tropicales y subtropicales (Gómez y Lima, 1964) y se produce en más de 90 países alrededor del mundo, destacando como los principales productores Brasil, India y China (FAOSTAT, 2013).

En México la caña de azúcar es uno de los principales cultivos agrícolas, existen más de 15 regiones cañeras distribuidas en la Costa del Pacífico, Área Central, Golfo de México y Área Caribeña en la Península de Yucatán (Muñoz et al., 2009).

La producción nacional de caña se realiza en 782,801.11 hectáreas, que generan 61,182,077.38 toneladas de materia prima, que abastecen a 55 ingenios localizados en 15 entidades, con la mayor producción en Veracruz, Jalisco, San Luis Potosí, Oaxaca y Tamaulipas (SIAP, 2013).

En el estado de Morelos, la caña de azúcar, es uno de los cultivos más importantes, presentando una superficie sembrada de 20,484.59 hectáreas, con una producción total de 2,091,418.50 toneladas y un rendimiento promedio de 118.64 toneladas por hectárea, el cual es uno de los mejores a nivel nacional. Los municipios más importantes por superficie cultivada son: Ayala, Tlaltizapán, Tlaquiltenango, Jojutla y Cuautla; juntos contribuyen con el 72% de la producción estatal y representa el mayor rendimiento registrado a nivel nacional (SIAP, 2013).

El rendimiento de este cultivo se ve limitado por factores bióticos y abióticos, destacando por su importancia diferentes enfermedades (Campos y Lugo, 2012). Históricamente, varias enfermedades han afectado la caña de azúcar, constituyendo una seria amenaza para la producción del cultivo en todos los lugares donde se siembra (Comstock, 2013; Huang y Hu., 1994). Los principales países productores como India y China, reportan que las enfermedades fungosas tienen la mayor importancia, destacando: la podredumbre roja causado por *Colletotrichum falcatum* Wenz; la marchitez y Pokkah boeng causados por *Fusarium sacchari* (E.J. Bluter) W. Gams; el carbón, ocasionado por *Ustilago scitaminea* Sydow; y la roya causada por *Puccinia melanocephala* Sydow y *P. kuehnii* Butl (Davis et al., 1980).

Desafortunadamente, el aumento acelerado en la incidencia de las enfermedades es preocupante y la rentabilidad está disminuyendo cada año. Debido a las enfermedades, los países productores están perdiendo entre el 10% y el 15% de la producción de azúcar

(Viswanathan y Rao, 2011; Comstock, 2013).

De las enfermedades fungosas más importantes de la caña de azúcar a nivel mundial, destaca la marchitez que ocasiona una sintomatología de clorosis y flacidez de las plantas así como una reducción de su crecimiento, afectando seriamente en muchas regiones productoras de caña de azúcar. Se ha reportado que la marchitez es una enfermedad que afecta los tejidos del tallo incidiendo directamente en el rendimiento de caña de azúcar (Viswanathan y Rao, 2011).

En las zonas productoras de caña del estado de Morelos, se ha observado la incidencia de esta enfermedad y se ha notado su incremento en los últimos años. Considerando la importancia de esta enfermedad Martínez (2014), realizó un estudio en el cual, reporta la presencia de cuatro especies causales de la necrosis de la raíz de caña de azúcar, *F. andiyazi*, *F. nygamai*, *F. sacchari* y *F. solani* que inducen la marchitez de las plantas de caña de azúcar. Por tal motivo, es de suma importancia conocer la situación fitosanitaria de las plantaciones cañeras para estar en condiciones de prevenir o reducir las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad. De esta manera este trabajo se tiene como objetivo, evaluar *in vitro* el efecto de tres fungicidas en el desarrollo de *Fusarium sacchari*, causante de la necrosis de las raíces de caña de azúcar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron plantas de caña de azúcar con síntomas de marchitez en los municipios de Jojutla y Tlaltizapán, las cuales fueron trasladadas al laboratorio para su análisis fitopatológico.

Aislamiento de *Fusarium sacchari*. Inicialmente en el laboratorio, las raíces de las plantas fueron lavadas con agua corriente para eliminar el suelo y la materia

orgánica adherida. De las raíces completamente limpias, se identificaron los tejidos con lesiones necróticas y se obtuvieron secciones de 3-5 mm. Estos cortes se desinfectaron superficialmente, mediante una inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 3%, durante 2, 3 y 5 minutos, y se hicieron tres lavados con agua destilada estéril, por 3 minutos cada uno. Para reducir el exceso de humedad de estas muestras se colocaron en papel absorbente estéril y se sembraron seis fragmentos por cada caja Petri con medio de cultivo PDA, acidificado con 2 mL de ácido láctico al 85%. Estas cajas Petri se incubaron a 24 °C por 72 horas.

Cultivos monoconidiales de *Fusarium spp.* De las primeras colonias obtenidas identificadas preliminarmente como *Fusarium*, se obtuvieron cultivos puros mediante la técnica de punta de hifa (Nelson et al., 1983).

Identificación de los aislamientos de *Fusarium spp.* Para llevar a cabo la identificación morfológica de los cultivos monoconidiales se tomaron pequeños fragmentos de la periferia de las colonias y se transfirieron a cajas Petri con los medios de cultivo SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar), HCA (Hojas de Clavel Agar) y PDA (Papa Dextrosa Agar). A partir de los catorce días se realizó la observación de las estructuras fructíferas de *Fusarium*, de las colonias creciendo en los medios SNA y HCA. La identificación se basó principalmente en la observación de las dimensiones y formas de los macroconidios, microconidios, fiálides y clamidosporas, complementándose con la determinación del color de la colonia desarrollada en PDA, basándose en las descripciones de la obra de Leslie y Summerell (2006).

Evaluación *in vitro* de fungicidas hacia *Fusarium sacchari* de caña de azúcar. Los fungicidas Benomyl (Metil 1-(butilcarbamil) benzimidazol-2-ilcarbamato), Carbendazim (Metil benzimidazol-2-ilcarbamato) y Tiofanato metílico [Dimetil 4, 4'-(-0-fenilen)

bis (3-tioalfanato)], frecuentemente recomendados y empleados para el control de enfermedades causadas por *Fusarium* en diferentes cultivos incluyendo la caña de azúcar, fueron evaluados *in vitro* bajo condiciones de laboratorio, a las dosis de 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ppm disueltas en medio de cultivo PDA (Avozani et al., 2014). Para el caso del testigo solo se prepararon cajas Petri con medio de cultivo PDA.

Colonias de *F. sacchari* aisladas de caña de azúcar. Se utilizaron las colonias de *F. sacchari*, mantenidas en crecimiento durante 15 días, bajo iluminación continua y a una temperatura de entre 24 y 28 °C.

Evaluación del efecto de los fungicidas. De colonias de *F. sacchari* con una edad de 15 días, se tomaron rodajas de medio de cultivo con micelio de 5 mm de diámetro y se colocaron en el centro de las cajas Petri adicionadas con las diferentes dosis de los fungicidas evaluados. Las cajas inoculadas se colocaron en una incubadora a temperatura entre 24 a 28 °C y luz continua. Como variable de respuesta se consideró el desarrollo micelial por tratamiento, el cual se registró en milímetros, a intervalos de observación de 24 horas, hasta que el crecimiento micelial cubrió totalmente la caja Petri del tratamiento testigo.

El efecto de cada uno de los fungicidas se determinó como porcentaje de inhibición del crecimiento radial del micelio de *F. sacchari*, con respecto al testigo absoluto desarrollado en PDA, se obtuvo por medio de la fórmula siguiente (Kaiser et al., 2005):

$$\% \text{ Inhibición} = \left[\frac{(C - T) \times 100}{C} \right]$$

Donde:

C = Promedio del crecimiento radial de la colonia del hongo como testigo.

T= Promedio del crecimiento radial de la colonia del hongo como tratamiento.

Diseño y análisis del experimento. Se realizaron tres experimentos para la evaluación de los fungicidas. Cada uno de estos bajo un diseño completamente al azar con once tratamientos incluido un testigo absoluto y tres repeticiones.

La unidad experimental fue una placa Petri de 90 mm de diámetro, adicionada con el fungicida y sembrada con un trozo de 5 mm de diámetro de *F. sacchari*.

La variable de respuesta fue la inhibición del crecimiento radial del micelio del hongo. Los datos de porcentaje de inhibición del crecimiento radial respecto del Testigo Absoluto, se analizaron mediante el paquete estadístico SAS. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y a una prueba de separación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) para ordenar la eficacia de los tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aislamiento de *Fusarium sacchari* obtenido de las raíces de caña de azúcar correspondió con las características morfológicas descritas por Leslie y Summerell (2006). En este aislamiento se evaluó *in vitro* el efecto de los fungicidas Benomyl, Carbendazim y Tiofanato metílico sobre el crecimiento micelial de *F. sacchari*.

Sensibilidad de *F. sacchari* hacia Benomyl. El fungicida Benomyl a las dosis de 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ppm inhibieron completamente el crecimiento micelial de *F. sacchari*. Con la dosis menor de 0.5 ppm se obtuvo un porcentaje de inhibición del 15.65.

El análisis de varianza muestra diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos, a partir de la prueba Tukey (Cuadro 1). Los tratamientos se pueden dividir en tres grupos: en el primer grupo la concentración del fungicida Benomyl a 0.5 ppm ocasionó el 15.65% de inhibición en el crecimiento de *F. sacchari*; en el segundo grupo las dosis de 1, 5, 10, 25,

50, 100, 250, 500 y 1000 ppm resultaron estadísticamente iguales entre sí, inhibiendo totalmente el crecimiento micelial de *F. sacchari*. El testigo absoluto es estadísticamente diferente a los demás tratamientos.

Este fungicida en otras especies de *Fusarium* tuvo efectos variables: el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f.s. *psidii* fue completamente inhibido a dosis de 100 ppm, 1000 ppm y 10, 000 ppm (Srivastava et al., 2011). La subespecie *cubense* tuvo una inhibición con Benomyl del 90.6% a una dosis de 2 ppm y de 28.8% a una dosis de 1 ppm (Araujo et al., 2008). En la subespecie *ciceri* el crecimiento micelial con Benomyl fue inhibido en un 60% a una dosis de 0.1% y a 78% a una dosis de 0.3% (Mukhtar, 2007). Por otra parte *Fusarium mangiferae* tuvo una inhibición del 100% a una dosis de 10 ppm de Benomyl (Zafar et al., 2010).

Sensibilidad de *F. sacchari* hacia Carbendazim. El fungicida Carbendazim a las dosis de 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ppm, inhibieron completamente el crecimiento micelial de *F. sacchari*. El análisis de varianza muestra diferencias altamente significativas entre los tratamientos, a partir de la prueba Tukey (Cuadro 1), se muestra que se formaron dos grupos: las dosis de Carbendazim de 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ppm resultaron estadísticamente iguales entre sí, inhibiendo completamente el crecimiento micelial de *F. sacchari*. El testigo absoluto resultó estadísticamente diferente a los demás tratamientos.

Taskeen-Un-Nisa et al. (2011) reportan que el crecimiento radial de *Fusarium oxysporum* tuvo una inhibición con el fungicida Carbendazim de 65.4% a una dosis de 125 ppm y de 86% a una dosis de 1000 ppm. En la subespecie *pini* tuvo una inhibición de 54.6% y 100% a una dosis de 10 y 40 ppm de Carbendazim, respectivamente (Dar et al., 2013). La subespecie *ciceri*, tuvo una inhibición del

crecimiento micelial, con Carbendazim del 60% a una dosis de 0.1% y de 85% a una dosis de 0.3% (Mukhtar, 2007). En *Fusarium mangiferae* tuvo una inhibición del 100% a una dosis de 10 ppm de Carbendazim (Zafar et al., 2010).

Sensibilidad de *F. sacchari* hacia Tiofanato metílico. El fungicida Tiofanato metílico a las dosis de 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ppm inhibieron completamente el crecimiento micelial de *F. sacchari*. Con las dosis 0.5, 1 y 5 ppm, se tuvo un porcentaje de inhibición del 27.69, 42.39 y 93.83, respectivamente. El análisis de varianza muestra diferencias altamente significativas entre tratamientos, a partir de la prueba Tukey (Cuadro 1). Los tratamientos se pueden dividir en cuatro grupos: En el primer grupo, las dosis de 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ppm, resultaron estadísticamente iguales entre sí, inhibiendo totalmente a *F. sacchari*; el segundo grupo con la dosis 0.5 ppm ocasionó una inhibición del 27.82% del crecimiento micelial de *F. sacchari*; el tercer grupo con la dosis de 1 ppm ocasionó una inhibición del 42.60%; y el testigo absoluto resultó estadísticamente diferente a los demás tratamientos.

El crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *pini* tuvo una inhibición del 48.5% y 100% a dosis de 10 y 40 ppm de Tiofanato metílico respectivamente (Dar et al., 2013). En la subespecie *gladioli* una mezcla de los fungicidas procloraz más Tiofanato metílico inhibió 100% del crecimiento micelial (Michel-Aceves et al., 2014).

El efecto supresor total fue desplegado por el Benomyl, Carbendazim y el Tiofanato metílico hacia *F. sacchari*, notándose que el crecimiento de las colonias disminuyó con el incremento de la concentración de los fungicidas.

Los fungicidas Benomyl y Carbendazim son altamente efectivos y demostraron su eficacia incluso a la concentración baja de 1 ppm alcanzando el

100% de disminución sobre el crecimiento micelial. El fungicida Tiofanato metílico probó ser igualmente bueno pero fue menos efectivo a la dosis de 5 ppm, pero desplegó un efecto equivalente a partir de la dosis de 10 ppm.

Cuadro 1. Inhibición del crecimiento micelial (%) de *Fusarium sacchari* bajo diferentes concentraciones de Benomyl, Carbendazim y Tiofanato metílico, en condiciones de laboratorio.

Dosis	Fungicida		
	Benomyl	Carbendazim	Tiofanato metílico
0.5	15.57 b ¹	100 a	27.69 b
1.0	100 a	100 a	42.39 c
5	100 a	100 a	93.83 a
10	100 a	100 a	100 a
25	100 a	100 a	100 a
50	100 a	100 a	100 a
100	100 a	100 a	100 a
250	100 a	100 a	100 a
500	100 a	100 a	100 a
1000	100 a	100 a	100 a
Testigo	0 c	0 b	0 d

¹Medias con la misma letra en cada columna no son estadísticamente diferentes (P=0.05).

El Benomyl, Carbendazim y Tiofanato metílico se incluyen dentro del grupo de los benzimidazoles. Estos son productos sistémicos y son fácilmente absorbidos para alcanzar su sitio de acción. El Benomyl y el Carbendazim tienen el mismo ingrediente activo metil 1-2 benzimidazol carbamato, gran similitud en el espectro fungitóxico y en el modo de acción (Hewitt, 1998). El Tiofanato metílico, aunque derivado de la tiourea, es clasificado dentro del grupo de los benzimidazoles, debido a su conversión en un anillo benzimidazol para tener actividad y semejanza de espectro fungicida como la del Benomyl (Singh, 1984).

CONCLUSIONES

En este estudio los fungicidas fueron evaluados *in vitro* por su efecto sobre el crecimiento micelial de *F. sacchari* y de esta manera identificar el más efectivo para su uso en campo. De acuerdo a los resultados

señalados en el presente trabajo sería apropiada la aplicación de Carbendazim para el manejo de la enfermedad de la marchitez en la caña de azúcar.

LITERATURA CITADA

Avozani, A., R. B. Tonin, E. M. Reis, J. Camera, and C. Ranzi C. 2014. *In vitro* sensitivity of *Fusarium graminearum* isolates to fungicides. *Summa Phytopathologica* 40(3): 231-247.

Araujo, D., D. Rodríguez, and M. E. Sanabria. 2008. Respuesta del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causante del mal de Panamá a algunos extractos vegetales y fungicidas. *Fitopal. Venez.* 21(1): 2-8.

Campos, H. A. y A. A. Lugo. 2012. Manual de plagas y enfermedades en caña de azúcar para el estado de Morelos. Folleto Técnico. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuarias Campo Experimental Zacatepec. 19 pp.

Comstock, J.C. 2013. Sugarcane Diseases: Futuristic Management Strategies. *Sugar Tech* 15(1):1-2.

Dar, W.A., M. A. Being, S.A. Ganie, Shabir-u-Rehman and S. M. Razvi. 2013. *In vitro* study of fungicides and biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *pinii* causing root rot of Western Himalayan fir (*Abies pindrow*). *Scientific Research and Essays* 8(30): 1407-1412

Davis, M., A. Gillaspie, R. Harris, and R. Lawson. 1980. Ratoon stunting disease of sugarcane: Isolation of the causal bacterium. *Science*. 210: 365-367.

FAOSTAT. 2013. FAO. Statistical data bases. Consultado el 24 de octubre de 2013.

Gómez, F.P., y U. Lima. 1964. A cana-de-açúcar no mundo. In: Malavolta et al. (eds.) *Cultura e adubaçao da cana-de-açúcar*.

- Instituto Brasileiro de Potassa, São Paulo, pp 11-26.
- Hewitt, H. G. 1998. Fungicides in Crop Protection. CAB International. London.
- Hernández, V. S. M. 2014. Aislamiento y evaluación *in vitro* de organismos antagonistas para el control de *Fusarium* spp., agente causal de la marchitez y pokkah boeng en caña de azúcar. Tesis de Maestría en Ciencias. Fitopatología. Postgrado de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 59 pp.
- Huang, H.N., Y.N Xu. 1994. Preliminary discussion on sugarcane breeding for disease-resistance in mainland China. Sugarcane and Canesugar, 4: 5-10.
- Kaiser, C., R. Van der Merwe, T. F. Bekker, and N. Labuschagne. 2005. *In vitro* inhibition of mycelial growth of several phytopathogenic fungi, including *Phytophthora cinnamomi* by soluble silicon. South African Avocado Growers Association Yearbook 28: 70-74.
- Leslie, J.F. and A.B. Summerell. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing. 274 pp.
- Martínez, J. P. 2014. Especies de *Fusarium* causantes de la necrosis de raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos. Tesis de Maestría en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos. 60 p.
- Michel-Aceves, A. C., R. Ariza-Flores, M. O. Otero-Sánchez, A. Barrios-Ayala y A. M. Quiroz-Millán. 2014. Efectividad *in vitro* de fungicidas químicos y biológicos en el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* y *Uromyces transversalis* en gladiola. Agroproductividad 7(3): 3-11.
- Muñoz, C. C., R. C. Espadas, M. J. Conde, T. M. Amaro, M. C. Can, J. Zopiyaxtle, y S. M. Luna. 2009. La caña de azúcar. Dirección Regional Peninsular de Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria. Boletín Comercialización No. 22. México. 29 pp.
- Mukhtar, I. 2007. Comparison of phytochemical and chemical control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. Micropath 5(2): 107-110.
- Nelson, P. E., T. A. Tousson, and W. F. O. Marasas. 1983. *Fusarium* Species, An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press, USA.
- SIAP. 2013. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA.
- Singh, R. H. 1984. Introduction to Principles of Plant Pathology. Oxford and IBH. London.
- Srivastava, S., V. P. Singh, R. Kumar, M. Srivastava, A. Sinha, and S. Simon. 2011. *In vitro* evaluation of Carbendazim 50% wp, antagonists and botanicals against *Fusarium oxysporum* f. sp. *psidii* associated with rhizosphere soil of guava. Asián Journal of Plant Pathology 5(1): 46-53.
- Taskeen-Un-Nisa, A. H., M.Y. Bhat, S.A. Pala and R. A. Mir. 2011. *In vitro* inhibitory effect of fungicides and botanicals on mycelial growth and spore germination of *Fusarium oxysporum*. Journal of Biopesticides 4(1): 53-56.
- Viswanathan R. and G. P. Rao. 2011. Disease scenario and management of major sugarcane diseases in India. Sugar Tech 13(4): 336-353.
- Zafar, I., P. M. Aslam, S. Ahmad, Y. Iftikhar, M. Yasin, M. Nawaz, A. Usman, A. A. Dasti, and A. Saleem. 2010. Determination of minimum inhibitory concentrations of fungicides against fungus *Fusarium mangiferae*. P.J. Bot 42(5): 3525-3532.