

Comportamiento de algunos fungicidas en el control de la *Alternaria solani* en condiciones de in-vitro y casa de cristal

F. IZQUIERDO

*Dpto. Fitopatología, Centro Nacional de Investigaciones Científicas,
Ciudad de la Habana, Cuba*

Recibido: 6 de octubre de 1980

Recibido: 21 de abril de 1981

ABSTRACT. Some different fungicides like Cupravit, Maneb-80 and Zineb-90 were proved and compared their action with Triazine and Difolatan which properties are specific to the species of the genera *Alternaria*. All of them were employed at different concentration in laboratory and greenhouse conditions against monosporic cultures of *Alternaria solani* (E. & M.) J. & G. The results showed that the common used fungicides were fungitoxic while, the specific ones were fungistatic. Triazine at 0,2% was the best followed by Maneb-80 at 0,4% both in greenhouse conditions.

RESUMEN. Se probaron algunos fungicidas de uso tradicional (Cupravit azul, Maneb-80 y Zineb-90) y sus acciones fueron comparadas con el Triazine y Difolatan, productos de propiedades específicas a las especies del género *Alternaria*, empleándose a varias concentraciones tanto en el laboratorio como en la protección de diferentes variedades comerciales y líneas de tomate post-inoculadas con suspensiones de esporas y discos miceliales procedentes de distintos cultivos monospóricos de *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout en casa de cristal. En los resultados obtenidos los fungicidas de uso tradicional mostraron un comportamiento fungitóxico, mientras los de propiedades específicas presentaron una acción fungistática. El Triazine en condiciones de casa de cristal mantuvo el mejor comportamiento en todas las variedades y líneas de tomate a partir de 0,2% seguida del Maneb-80 al 0,4%.

INTRODUCCION

Entre los métodos de lucha contra la enfermedad "tizón temprano" en las plantaciones de tomate y papa, se halla el empleo de fungicidas como uno de los principales.

En la nueva forma de producción científica de la agricultura es de vital importancia el papel que desempeña la protección de los cultivos con

estos productos. El aumento de los rendimientos ha coincidido con el uso de nuevos fungicidas más selectivos y eficaces.

Actualmente, en muchos laboratorios y fábricas en los países desarrollados, se crean y manufacturan nuevos productos con propiedades selectivas a este patógeno, los cuales son sometidos a un número de pruebas tanto de laboratorio como en casa de cristal, con el objetivo de establecer los rangos de dosificaciones más adecuadas que porten la letalidad al patógeno sin afectación al vegetal.

A pesar de lo expresado, estas formulaciones necesitan ser sometidas nuevamente a pruebas de laboratorio, casa de cristal y campo en los países que lo importan, debido a que estos presentan diferentes condiciones ambientales así como poblaciones microbianas con distintos grados de patogenocidad la cual se halla variando continuamente.

Existen varios métodos para evaluar la eficacia y la especificidad de los fungicidas en condiciones de laboratorio, encontrándose entre ellos uno de uso muy común denominado "cultivo envenenado" tal como fue empleado por Rodríguez (1978) en la comparación de cuatro fungicidas catalogados de preventivos y dos antibióticos frente a la acción del *Alternaria alternata*.

Neely y Himelick (1966), valoraron los caracteres: fungistático y fungicida en 24 productos comerciales a través de la técnica del papel de celofán obteniendo que estas cualidades se diferencian con las concentraciones probadas.

Los objetivos propuestos en este trabajo son los siguientes:

1. Determinar el comportamiento de varios fungicidas en cuanto a su acción fungicida o fungistática en varios aislamientos monospóricos de *A. solani* in vitro.
2. Determinar el comportamiento de estos productos en condiciones de casa de cristal empleándose algunas variedades comerciales de tomate.

MATERIALES Y METODOS

Fungicidas

Varios fungicidas comerciales de uso tradicional y otros de nueva importación, se probaron a diferentes concentraciones (Tabla I), en la

inhibición de germinación de esporas y en el crecimiento micelial en este patógeno.

TABLA I

Fungicidas		Concentraciones %											
Zineb	0,0	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,75	1,0	
Maneb	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
Difolatan	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
Cupravit	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
Triazine	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	

Aislamientos

Algunas cepas del fitopatógeno *Alternaria solani*, se seleccionaron del cepario existente en nuestro laboratorio (Fitopatología, CENIC) para la realización, tanto de las pruebas de inhibición del crecimiento micelial, como en la germinación de esporas. Las cepas escogidas fueron las siguientes:

To. No. 1; To. No. 4; To. No. 8; To. No. 16;

To. No. 23; To. No. 25; To. No. 31

Suspensiones de esporas

Las esporas procedentes de todas las cepas antes mencionadas con excepción de las To. No. 4 y To. No. 23, una vez obligadas a esporular mediante la utilización del método de Douglas y Pavék (1971) modificado por Izquierdo (1977), se recogieron en agua destilada y esterilizada a pH $6,2 \pm 2,0$, alcanzando las suspensiones las concentraciones de 1200-1500 esporas/ml.

Variedades y líneas de tomate

Las variedades comerciales y líneas de tomate empleadas resultaron ser las siguientes:

Marion, Marglobe, Manalucie, Roma Nacional, Similar Rugter-140, Cueto. # 856, Campbell-28 y línea R14-P5.

Prueba de los fungicidas en el crecimiento micelial

Las cepas sembradas en un medio basal sacarosado (15 g/l), se les adicionaron los fungicidas a las concentraciones (%) de 0,0; 10^{-5} ; 10^{-3} ; 0,1; 0,3; 0,5 y 1,0 cuando el medio tenía 50°C. La siembra consistió en la colocación en los centros de las placas Petri, conteniendo los medios envenenados, de discos miceliales de 2,0 mm de diámetro procedentes de las zonas periféricas de los cultivos previos sobre P.D.A. de estas cepas cuando tenían de 8-10 días de edad.

Finalizada la siembra, los cultivos se incubaron a $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 10 días, evaluándose cada dos días a partir de la siembra, mediante la medición de los diámetros de crecimiento de la colonia.

Prueba de la acción fungicida en la germinación de esporas

En este trabajo se utilizó el método recomendado por Horsfall (1956), consistiendo en la disolución de los productos a probar en agua destilada y esterilizada a distintas concentraciones con una pipeta serológica de mililitro graduada en 0,1 ml, depositándose gotas de 0,6 ml sobre porta-objetos por concentración de producto. Las gotas se desecaron en una estufa a $32^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, luego se depositó una gota de idéntico volumen de una de las suspensiones de esporas sobre el residuo de producto dejado por la gota anterior, se homogeneizaron las esporas con el fungicida mediante una aguja esterilizada colocándose los porta-objetos con las gotas de esporas y producto en una cámara húmeda, incubándose luego a $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

Prueba de los fungicidas en casa de cristal

Las variaciones comerciales de tomate se fumigaron con los fungicidas seleccionados a las concentraciones (%) de 0,0 0,1; 0,2; 0,3 y 0,4 en plantas de 45 días de sembradas en bolsas de polietileno de 0,5 galón de capacidad conteniendo arcilla roja esterilizada. La fumigación se realizó con una mochila manual de espalda a las primeras horas de la mañana, permaneciendo en estas condiciones durante 24 horas en que se inocularon con una suspensión de esporas procedentes de varias cepas de *A. solani* a las concentraciones de 5,000-5500 esporas/ml, luego se cubrieron con nylon transparente con el objetivo de crear un ambiente de alta humedad relativa (100%) la cual permite la germinación de las esporas y la penetración de los tubos germinativos a través de los esto-

mas, permaneciendo durante cinco días en estas condiciones para posteriormente efectuar las correspondientes evaluaciones, cubriéndose nuevamente hasta la esporulación (incubación epifitiótica).

Evaluación

La evaluación de los cultivos miceliales se efectuó cada 2 días a partir de la siembra, consistiendo en la medición de los diámetros de crecimiento de las colonias.

Cien esporas en total se evaluaron a través del microscopio compuesto con un aumento de 200x, contándose el número de esporas germinadas y no germinadas a razón de 25 esporas por gota, aplicándose una escala a las germinadas basadas en dos grados:

Primer grado

Todas las esporas germinadas en que sus tubos germinativos alcanzan una longitud comprendida entre el ancho y el largo de la conidia.

Segundo grado

Todas aquellas cuyos tubos germinativos sobrepasen la longitud de la espora. La evaluación de las esporas germinadas se realizaron a las 24 horas de permanencia en la cámara húmeda.

Las plantas tratadas en la casa de cristal se evaluaron a los 5 días después de la inoculación, consistiendo su evaluación en la aplicación de una escala de 0-4 basada en el número de lesiones presentes en los foliolos en las distintas variedades.

Escala 0-4

Grados	Características
0	Ninguna lesión se observa.
0,1	Algunas lesiones (1-5/planta).
1,0	Número bajo de lesiones (6-10/planta).
2,0	Número moderado de lesiones (11-25/planta).
3,0	Número elevado de lesiones 26-50/planta).
4,0	Hojas necróticas se observan (más de 50/planta).

Aplicándose luego la fórmula de Townsend y Heuberger (1967) en la obtención del por ciento de infección:

$$I = \frac{\Sigma (f \cdot v)}{n \cdot x} \cdot 100$$

Diseño experimental y procesamiento de los datos

En la experiencia de casa de cristal, las variedades se agruparon en hileras de 10 plantas, correspondiendo dos por réplica, haciendo un total de cinco repeticiones distribuidas en un diseño de "bloques al azar".

Se empleó el modelo estadístico denominado "Factorial", después que los datos sufrieron transformaciones a través de las expresiones matemáticas $\sqrt{x + 0,375}$ para los conteos de lesiones y arcoseno $\sqrt{x}$ para los por cientos (Snedecor y Cochran, 1956), comparándose las medias con la utilización de la dódima de rango múltiple (Duncan, 1960).

RESULTADOS

El comportamiento de los fungicidas a las concentraciones seleccionadas en la inhibición de la germinación de las esporas procedentes de diferentes cepas se puede observar en la Tabla II. En esta tabla se aprecia como el Zineb-90 y el Maneb-80 presentaron las mejores respuestas en tres de las cinco cepas probadas a partir de 0,2%, mientras el Triazine solamente tuvo efectividad en una cepa y el Difolatán en dos a las más elevadas concentraciones.

En la Tabla III se señala el comportamiento de estos fungicidas en la inhibición del crecimiento de los tubos germinativos de las cepas antes mencionadas, observándose cómo el Triazine mostró el mejor resultado a partir de 0,001% seguido del Maneb-80 y posteriormente el Zineb-90 y el Cupravit azul a partir de 0,01%. El Difolatán presentó su mejor efecto al 0,5% solamente en dos de las cinco cepas.

La Tabla IV muestra el efecto de los fungicidas en la inhibición del crecimiento micelial de varias cepas de este fitopatógeno en condiciones de in vitro, señalándose al Triazine y Difolatán como los mejores a partir de 0,001%, resultando el Zineb-90 el peor, pues a partir de 0,5% inhibió el crecimiento del micelio de todas las cepas seleccionadas.

TABLA II

Comportamiento de los fungicidas a diferentes concentraciones en la inhibición de la germinación de las esporas de distintas cepas de Alternaria solani

Fungicidas	Conc. %	C e p a s				
		1	8	16	25	31
Zineb	0,2	—	+	—	—	+
Zineb	0,3	—	+	+	—	+
Zineb	0,4	—	+	+	—	+
Zineb	0,5	—	+	+	—	+
Zineb	0,75	—	+	+	—	+
Zineb	1,0	—	+	+	—	+
Maneb	0,2	+	—	+	—	+
Maneb	0,3	+	—	+	—	+
Maneb	0,4	+	—	+	—	+
Maneb	0,5	+	—	+	—	+
Maneb	0,75	+	—	+	—	+
Maneb	1,0	+	—	+	—	+
Triazine	0,2	—	—	—	—	+
Triazine	0,3	—	—	—	—	+
Triazine	0,4	—	—	—	—	+
Triazine	0,5	—	—	—	—	+
Triazine	0,75	—	—	—	—	+
Triazine	1,0	—	—	—	—	+
Difolatan	0,5	—	—	+	—	—
Difolatan	0,75	—	—	+	—	—
Difolatan	1,0	—	—	+	+	—
Cupravit	0,2	+	—	—	—	—
Cupravit	0,3	+	—	—	—	—
Cupravit	0,4	+	—	—	—	—
Cupravit	0,5	+	—	—	—	—
Cupravit	0,75	+	—	+	—	—
Cupravit	1,0	+	—	+	—	—

+ = Inhibición de la germinación significativa al $P \leq 0,05$

— = Germinación

Nota: El resto de las concentraciones probadas no reflejadas en la tabla no arrojaron resultados positivos.

TABLA III

Comportamiento de los fungicidas a distintas concentraciones en la inhibición del crecimiento de los tubos germinativos de esporas de diferentes cepas de Alternaria solani

Fungicidas	Conc. %	C e p a s				
		1	8	16	25	31
Zineb	0,01	+	—	—	—	—
Zineb	0,1	+	—	+	+	+
Zineb	0,2	+	—	+	+	+
Zineb	0,3	+	—	+	+	+
Zineb	0,4	+	—	+	+	+
Maneb	0,01	—	—	—	+	+
Maneb	0,1	—	+	+	+	+
Maneb	0,2	—	+	+	+	+
Maneb	0,3	—	+	+	+	+
Maneb	0,4	+	+	+	+	+
Triazine	0,001	—	—	+	—	+
Triazine	0,01	—	—	+	—	+
Triazine	0,1	+	—	+	—	+
Triazine	0,2	+	—	+	—	+
Triazine	0,3	+	—	+	—	+
Triazine	0,4	+	—	+	+	+
Triazine	0,5	+	+	+	+	+
Difolatan	0,3	—	—	—	—	—
Difolatan	0,4	—	—	—	—	—
Difolatan	0,5	+	—	+	—	—
Cupravit	0,001	—	—	—	—	—
Cupravit	0,01	+	—	+	—	—
Cupravit	0,1	+	+	+	+	—
Cupravit	0,2	+	+	+	+	+

+ = Inhibición del crecimiento de los tubos germinativos significativamente al $P \leq 0,05$ (Duncan, 1960).

— = No inhibición

Nota: El resto de las concentraciones no reflejadas en la tabla no arrojaron resultados positivos.

TABLA IV

Comportamiento de los fungicidas a diferentes concentraciones en la inhibición del crecimiento micelial de varias cepas de Alternaria solani in-vitro.

Fungicidas	Conc. %	C e p a s						
		1	4	8	16	23	25	31
Zineb	0,5	+	+	+	—	—	+	—
Zineb	1,0	+	+	+	+	+	+	+
Maneb	0,3	+	—	—	+	—	+	—
Maneb	0,5	+	+	+	+	—	+	+
Maneb	1,0	+	+	+	+	+	+	+
Cupravit	0,001	—	—	+	—	—	—	—
Cupravit	0,1	—	—	+	—	—	—	+
Cupravit	0,3	—	—	+	—	+	+	+
Cupravit	0,5	+	+	+	+	+	+	+
Cupravit	1,0	+	+	+	+	+	+	+
Triazine	0,001	+	+	+	+	+	+	+
Triazine	0,1	+	+	+	+	+	+	+
Triazine	0,3	+	+	+	+	+	+	+
Triazine	0,5	+	+	+	+	+	+	+
Triazine	1,0	+	+	+	+	+	+	+
Difolatan	0,001	+	—	+	+	+	+	+
Difolatan	0,1	+	+	+	+	+	+	+
Difolatan	0,3	+	+	+	+	+	+	+
Difolatan	0,5	+	+	+	+	+	+	+
Difolatan	1,0	+	+	+	+	+	+	+

+ = Inhibición del crecimiento micelial en varias cepas al $P \leq 0,05$ según Duncan (1960).

— = No Inhibición del crecimiento micelial.

Nota: El resto de las concentraciones no reflejadas en la tabla no arrojan resultados positivos.

En la Tabla V se puede observar cómo el Maneb-80 a 0,4% resultó el más efectivo en el control de esta enfermedad en las variedades comerciales de tomate en condiciones de casa de crisal, luego le sigue el Triazine a las concentraciones más elevadas.

TABLA V

Comportamiento de los fungicidas a diferentes concentraciones en la protección de distintas variedades de tomate en casa de cristal

Fungicidas	Conc.	Medias (% de infección)	
Maneb	0,4	12,64	a
Triazine	0,4	18,36	b
Triazine	0,3	21,47	c
Triazine	0,2	21,61	c
Maneb	0,3	26,14	d
Cupravit	0,3	27,25	e
Maneb	0,1	27,52	e
Zineb	0,3	27,87	e
Zineb	0,2	30,40	f
Maneb	0,2	31,32	g
Cupravit	0,4	33,31	h
Cupravit	0,2	34,19	i
Zineb	0,4	36,40	j
Triazine	0,1	37,42	k
Cupravit	0,1	45,40	m
Zineb	0,1	61,93	n
Testigo	0,0	130,82	ñ

Medias con letras no coincidentes difieren entre sí al $P \leq 0,05$ según dócima de rango múltiple de Duncan (1960) $E.S._x = 0,073$

En la Tabla VI se muestra el comportamiento de las diferentes variedades comerciales de tomate protegidas por los fungicidas a probar en condiciones de casa de cristal, indicándose a las variedades Manalucie y Similar Rugter-140 las que presentaron las mejores respuestas.

DISCUSION

Como se puede apreciar, los productos seleccionados mostraron diferentes comportamientos en las distintas fases del ciclo biológico del fitopatógeno *Alternaria solani*, tanto en condiciones de in vitro como in vivo.

TABLA VI

Comparación de las medias del comportamiento de las variedades de tomate protegidas con los diferentes fungicidas en condiciones de casa de cristal

Variedades	Medias (% de infección)	
Manalucie	93,208	a
Similar Rugter-140	98,428	b
Roma Nacional	102,848	c
Cueto No. 856	107,069	d
67-B-833-1	109,829	e
Marglobe	111,052	f

Medias con letras no coincidentes difieren entre sí al $P \leq 0,05$ según dócima de rango múltiple de Duncan (1960) $E.S._x = 0,073$

En las experiencias realizadas en el laboratorio con micelio y esporas de este patógeno, los resultados se mostraron muy precisos en cuanto al comportamiento del Maneb-80, Zineb-90 y Cupravit azul de uso tradicionales con relación al Triazine y Difolatán de reciente importación por poseer acción específica en el control de especies del género *Alternaria* de acuerdo a información de las casas comerciales.

Los fungicidas de empleo tradicional presentaron cualidades fungitóxicas y muy poca o nula de fungistáticas, por el contrario los productos recién importados mostraron un efecto netamente fungistático.

También se pudo observar en todos estos productos cierta selectividad a determinadas cepas de este fitopatógeno, mostrando esto la necesidad del empleo combinado o cíclico de estos productos en las plantaciones, pues las poblaciones de este parásito se encuentran variando de acuerdo al grado de susceptibilidad de los hospederos y a las condiciones ambientales predominantes.

En las experiencias realizadas en casa de cristal, el Triazine demostró poseer una elevada efectividad al proteger diferentes variedades de tomate frente a esta enfermedad en plantas post-inoculadas, presentando también el Maneb-80 igual comportamiento a altas concentraciones.

La tolerancia presentada por las distintas variedades a este parásito varió de acuerdo al fungicida utilizado, destacándose notablemente las variedades Manalucie y Similar Rugter-140 con la mayoría de estos productos. Por tanto, se hace necesario asociar el fungicida protector con las variedades comerciales de tomate en las plantaciones ubicadas en las diferentes regiones, para la obtención de un control más eficiente.

CONCLUSIONES

Los fungicidas de uso tradicional Maneb-80, Zineb-90 y Cupravit azul, demostraron poseer cualidades destacadamente fungitóxicas, mientras los recién importados específicos al control de este patógeno (Triazine y Difolatán) presentaron una acción fungistática in-vitro.

El Triazine a partir de 0,2% y el Maneb-80 a 0,4% mostraron una notable efectividad en el control del tizón temprano en las variedades comerciales de tomate en casa de cristal.

REFERENCIAS

- DOUGLAS D.R. AND PAVEK J.J. An efficient method of inducing sporulation of *Alternaria solani* in pure culture. *Phytopathology* 61, 239, 1971.
- DUNCAN D.R. A multiple range test. *Biometrics*, 1960.
- HORSFALL G.J. Principles of fungicidal action. Waltham, Mass., U.S.A. Published by the chronica Botanica company, 1956.
- IZQUIERDO F. Un rápido y sencillo método para provocar la esporulación de la *Alternaria solani* en cultivo puro. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*, 8, 155, 1977.
- NEELY D. AND HIMELICK E.B. Simultaneous determination of fungistatic and fungicidal properties of chemical. *Phytopathology* 56, 203, 1966.
- RODRÍGUEZ R. Comprobación "in-vitro" de la acción de varios fungicidas contra *Alternaria alternata* (Fr) Keissler, aislada de manchas foliares del pepino Xoba. *Revista de Agricultura* 2, 38, 1978.
- SNEDECOR G.W. AND COCHRAN W.G. Métodos estadísticos aplicados a la investigación Agrícola y biológica. Cía Edit. Continental S. A., México, 2da reimp., 5a. ed., 626 pp, 1966.
- TOWNSEND Y HEUBERGER. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer 4, 1967,