

3860

" EVALUACION "in vitro" DE ALGUNOS FUNGICIDAS MODERNOS
CONTRA LOS HONGOS Phytophthora infestans, De Bary., Botrytis
cinerea, Pers y Pyricularia oryzae, Cav. "

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA

TESIS

Presentada al Programa de Estudios para Graduados
en Ciencias Agrarias, Universidad Nacional-Instituto
Colombiano Agropecuario (ICA)

Por

LILIA REYES HERRERA

"

Como requisito parcial para optar al grado de

MAGISTER SCIENTIAE

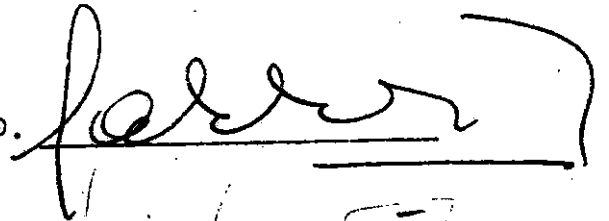
Bogotá, Colombia

1.982

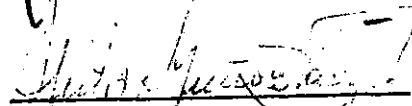
TESIS APROBADA POR :

COMITE CONSEJERO

DR. PABLO BURITICA CESPEDES Ph.D.

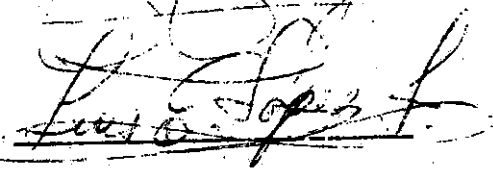


DR. HECTOR MUÑOZ



DR. LUIS ENRIQUE LOPEZ J.

Ph.D.



" El presidente de tesis y el Consejo Examinador de Grado, no serán responsables de las ideas emitidas por el candidato ". (Artículo 217 de los Estatutos de la Universidad Nacional) .

Al Programa de Estudios para Graduados en Ciencias
Agrarias, Universidad Nacional- Instituto Colombiano
Agropecuario ICA.

A la Universidad Pedagógica Nacional.

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa sinceros agradecimientos a la Universidad Pedagógica Nacional porque hizo posible la realización de los estudios de Post-grado.

Al Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, Regional No. 1. "Tibaitatá" por la aceptación y orientación brindada durante la realización del Post-grado.

A los Doctores Pablo Buriticá, Héctor Muñoz y Luis E. López, Consejeros, por su valioso estímulo, sugerencias y colaboración.

A todas las personas que en una u otra forma contribuyeron a la realización de este estudio .

TABLA DE CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION DE LITERATURA	4
2.1 LA GOTA DE LA PAPA Y SU CONTROL CON METALAXYL	4
2.2 LA PUDRICION O MOHO GRIS DE LAS FLORES Y SU CONTROL CON BENOMYL	8
2.3 EL AÑUBLO DEL ARROZ Y SU CONTROL CON ANTI-BIOTICO KASUGAMICINA	13
2.4 EVALUACION DE FUNGICIDAS EN EL LABORATORIO	17
3. MATERIALES Y METODOS	21
3.1 ESTUDIO DEL PODER INHIBIDOR DE FUNGICIDAS SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL	21
3.1.1 Obtención de Inóculo	21
3.1.2 Medios artificiales de Cultivo	22
3.1.3 Preparación de las soluciones fungicidas e incorporación al Medio de Cultivo	23
3.1.4 Inoculación	24
3.1.5 Registro de Datos	24
3.2 ESTUDIO DEL PODER INHIBIDOR DE FUNGICIDAS SOBRE LA ESPORULACION	25
3.3 ESTUDIO DEL EFECTO INHIBIDOR DE FUNGICIDAS SOBRE LA GERMINACION DE ESPORAS	26
3.4 PROCESO ESTADISTICO	27

	Página
4. RESULTADOS	28
4.1 EFECTO DEL FUNGICIDA METALAXYL EN EL DESARROLLO DE <u>Phytophthora infestans</u> "in vitro"	28
4.2 EFECTO DEL FUNGICIDA BENOMYL EN EL DESARROLLO DE <u>Botrytis cinerea</u> "in vitro"	32
4.3 EFECTO DEL ANTIBIOTICO KASUGAMICINA EN EL CONTROL DE <u>Pyricularia oryzae</u> "in vitro"	34
4.4 COMPORTAMIENTO INHIBITORIO DE LOS FUNGICIDAS PROBADOS.	34
4.5 ANALISIS ESTADISTICO	37
5. DISCUSION	44
6. CONCLUSIONES	47
7. RESUMEN	49
8. SUMMARY	51
. BIBLIOGRAFIA	53

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Efecto de diferentes dosis de Metalaxyl en el crecimiento micelial y esporulación de <u>Phytophthora infestans</u> " in vitro " .	29
2	Comportamiento de <u>Phytophthora infestans</u> proveniente de dos localidades ante diferentes dosis de Metalaxyl " in vitro " .	31
3	Comportamiento del hongo <u>Botritis cinerea</u> Pers. ante el fungicida Benomyl en pruebas de laboratorio .	33
4	Comportamiento del hongo <u>Pyricularia oryzae</u> Cav. ante el antibiótico Kasugamicina en pruebas "in vitro"	35
5	Comportamiento inhibitorio de los fungicidas probados .	36
6	Análisis de varianza para indentificar el efecto de Metalaxyl sobre <u>Phytophthora infestans</u> .	39
7	Prueba de Duncan: Metalaxyl Vs. <u>Phytophthora</u> .	40
8	Análisis de varianza y prueba de Duncan para identificar el efecto del Benomyl sobre <u>Botrytis</u> sp. aislado de rosas .	41
9	Análisis de varianza y prueba de Duncan para identificar el efecto de Kasugamicina sobre <u>Pyricularia</u>	42

LISTA DE FIGURAS

Figura

1. Efecto de diferentes concentraciones de Metalaxyl sobre crecimiento micelial de Phytophthora infestans .
2. Efecto de las diferentes concentraciones de Metalaxyl sobre la formación de esporangios de P. infestans " in vitro " . Las lecturas se realizaron en cultivos de 30 días de edad, promedio de 5 aislamientos en cada caso.
3. Crecimiento micelial " in vitro " de Botrytis cinerea en relación al tiempo de incubación y a la dosis del fungicida .
4. Efecto del fungicida Kasugamicina en el crecimiento micelial y esporulación de Pyricularia oryzae " in vitro "

1. INTRODUCCION

La continua y creciente demanda de alimentos para suplir el incremento de la población, requiere un máximo de producción de las tierras dedicadas a la agricultura o la expansión de las fronteras agrícolas. Es por esto que la prevención de pérdidas por enfermedades fungosas es un factor fundamental en los distintos sistemas de producción.

Los problemas fitosanitarios de los cultivos de papa, arroz, flores y frutas en nuestro país son cada vez mayores, ocasionando mermas en los rendimientos y demeritando la calidad de los productos. Estos cultivos son de gran importancia en la economía agrícola del país ya que además de cubrir las necesidades nacionales, su producción genera excedentes exportables que incrementan nuestras divisas .

Como sabemos, los químicos para el control de problemas fitosanitarios en las plantas, son esenciales en la producción de las cosechas y se estima que la mitad de las cosechas del mundo no podrían crecer sin ellos.

En años recientes la tecnología del control químico creó los fungicidas de acción sistémica, armas de altísima efectividad contra patógenos fungosos pero que traen consigo el problema de desarrollo de resistencia en numerosos patógenos de control químico. (9).

El uso continuado de productos sistémicos de acción específica en la fisiología del hongo conlleva a que se activen sistemas que este organismo normalmente no usa o a que una simple mutación inhiba la eficiencia del fungicida o lo lleve a tolerar dosis más altas del producto; por esto, al recomendar productos sistémicos en las plantas se deben tener en cuenta los siguientes criterios :

1. Modo de acción (específicos para determinados grupos taxonómicos).
2. Aún cuando son eficientes en el control de algunas enfermedades se seleccionan otras que pueden pasar de esporádicas a endémicas.
3. El desarrollo de resistencia a fungicidas en algunos patógenos que causan enfermedades importantes.
4. Los costos, pues al incrementar las dosis por el desarrollo de tolerancia, su uso se hace más costoso.

5. Se debe planear un control químico que incluya más de un producto en rotaciones o mezclas. (2).

Entre las enfermedades que se controlan en Colombia con productos sistémicos figuran: la gota de papa, causada por Phytophthora infestans, De Bary, la pudrición de flores y frutos por Botrytis cinerea, Pers., y la piricularia del arroz debida al hongo Pyricularia oryzae, Cav.

Las pruebas "in vitro" de los fungicidas de mayor uso en el momento para el control de las enfermedades fungosas en nuestros principales cultivos juegan un papel muy importante ayudando a predecir con cierta seguridad, rapidez y eliminación de pruebas costosas de químicos en el campo, la eficacia de ciertos fungicidas.

El presente trabajo pretende esclarecer la acción "in vitro" de Metalaxyl, Benomyl y Kasugamicina estudiando el efecto de diferentes dosis del químico en el crecimiento micelial, porcentaje de esporulación, liberación y motilidad de zoosporas y germinación de esporangios.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 LA GOTA DE LA PAPA Y SU CONTROL CON METALAXYL

La papa es uno de los cultivos más importantes del mundo y producto básico de la alimentación del pueblo colombiano desde épocas precolombinas. Debido a sus cualidades nutritivas y a que es uno de los cultivos mejor balanceados ya que proporciona calorías necesarias para la alimentación humana ocupa el cuarto lugar en importancia entre todos los cultivos del mundo .

El tizón tardío, rancha, hielo o gota es probablemente la enfermedad más importante de la papa en el mundo. La hambruna de Irlanda en 1.840 se debió al ataque de Phytophthora infestans, hongo causante de esta enfermedad. Grandes cantidades de fungicidas se aplican a la papa en todo el mundo con el fin de protegerla de este hongo.

Como sabemos, una cosecha en particular no es atacada por una sola enfermedad fungosa, los investigadores e industriales se han preocupado de combinar fungicidas que controlen patógenos de un determinado cultivo .

Edgington (11), cita al Metalaxyl como un fungicida sistémico nuevo ,

muy efectivo contra el tizón tardío de la papa causado por Phytophthora infestans , sin embargo, los cultivadores deben utilizar Mancozeb o cualquier otro fungicida para el control del tizón temprano causado por Alternaria solani .

En Agosto de 1.980 los cultivadores de papa holandeses se quejaron de la ineffectividad del fungicida sistémico Metalaxyl en el control del tizón tardío de la papa a pesar de haberlo usado a las dosis e intervalos recomendados (8).

Después de registrado en 1.979, el Metalaxyl fué usado ese año en un 5% y en 1.980 en un 50% de los cultivos de papa así que el desarrollo de resistencia fué extremadamente alto. Las razones son las siguientes:

1. La facilidad con la cual mutantes resistentes a Metalaxyl se levantaron en la población.
2. Condiciones ambientales favorables para el desarrollo de una epidemia de gota.
3. El uso único de Metalaxyl en un 50% de los campos donde los mutantes resistentes se desarrollaron rápidamente .

La erupción de una epidemia de gota en 1.980 en Holanda, causada por poblaciones resistentes a Metalaxyl dió como resultado pérdidas financieras considerables para muchos cultivadores de papa . (8).

En Colombia Navarro, Puerta y Pérez (23), en el Centro Regional de Investigación "La Selva", Instituto Colombiano Agropecuario, apoyados en observaciones de campo y experimentación de laboratorio concluyeron la aparición de una raza de Phytophthora infestans resistente a Metalaxyl pues los primeros ensayos realizados en 1.976 indicaron que dosis de 0.8 gr/lit del producto comercial aplicado con frecuencia quincenal daban excelente control contra la gota de la papa, pero en 1.980 se observó que la eficiencia del Metalaxyl no era igual que antes ya que en ensayos sobre control de enfermedades en papa variedad Sirena se observó que las parcelas tratadas quincenalmente en dosis de 0.8 gr/lit estaban completamente afectadas por el hongo .

Cohen y M. Reuveni (6), examinando la actividad antifúngica de Ridomil sobre Phytophthora en tomate observaron que el porcentaje de zoosporas liberadas de los esporangios (normalmente entre 50 y 80%) no fué afectado por dosis hasta de 25 Mg/ml. A mayores de 50 Mg/ml la liberación de zoosporas se redujo en un 80%. La motilidad de las zoosporas fué normal a 5 Mg/ml. pero bajó hacia los 25 Mg/ml. No se observó motilidad a más de 125 Mg/ml., las zoosporas fueron rotas.

En agua todas las zoosporas germinaron y produjeron tubos germinativos de 20 a 50 mm de longitud. A concentraciones de 5 a 25 Mg de Ridomil/ml todas las esporas germinaron pero los tubos germinativos solo alcanzaron de 10 a 15 mm de longitud. A 50 Mg/ml solamente el 50% de las zoosporas germinó y los tubos germinativos fueron de 5 a 10 mm de longitud. A 100 Mg/ml no hubo germinación de zoosporas.

Metalaxyl fué ligeramente tóxico de esporangios y zoosporas de P. infestans, pero cuando se mezcló con inóculo fungal no previno la penetración en el tejido de la hoja a pesar de ser aplicado a altas concentraciones.

(6).

Staub et al 1978, observaron que la penetración e iniciación del primer haustorio de P. infestans en tomate y de Plasmopora viticola en uva fué la misma en hojas tratadas o no con Ridomil.

Georgopoulos (13), afirma que existen cepas resistentes aún antes de usar el fungicida en una área y su frecuencia no es conocida. Cepas resistentes presentes en la población del patógeno pueden ser incrementadas con el uso de tratamientos con Metalaxyl con las consecuentes fallas en el control de la enfermedad.

Ridomil una formulación Metalaxyl es un fungicida selectivo para enfer-

medades causadas por hongos Oomicetos responsables de mildes vellosos, tizón tardío del tallo, cuello, frutos, tubérculos y pudrición de la raíz .

Ridomil es absorbido por las hojas, tallos y raíces y transportado acropetalmente (hacia arriba) en el sistema vascular .

El efecto de Ridomil cuando se aplica como fungicida foliar, protector es de más de tres semanas. Además muestra buena actividad cuando la segunda aplicación se hace dentro de un período de cinco a siete días después de la primera aplicación. Después de estas aspersiones curativas con Ridomil como recomendación debe continuarse un programa de aspersiones protectoras. (7).

2.2 LA PUDRICION O MOHO GRIS DE LAS FLORES Y SU CONTROL CON BENOMYL

Moho gris es el nombre común más frecuentemente usado para identificar infecciones causadas por Botrytis .

Muchas plantas son afectadas y todas las partes de la planta pueden ser infectadas. En condiciones favorables de alta humedad y bajas temperaturas Botrytis produce masivas cantidades de finas esporas que son

ampliamente distribuidas por el aire causando grandes pérdidas en hortalizas, flores de jardín, viveros y frutas.

Las flores de exportación y entre ellas los claveles y rosas se han convertido en los últimos años en un renglón agrícola de especial importancia para Colombia.

Ensayos realizados en el campo con la variedad "Tropicana" de rosas en el Valle del Cauca indicaron que el fungicida sistémico Benomyl (Benlate) inicialmente demostró alta eficacia para combatir Sphaerotheca pannosa pero la aplicación exclusiva de este producto durante 10 meses gradualmente indujo la resistencia del organismo a dicho fungicida perdiendo su efecto totalmente. (36).

La resistencia de los patógenos de plantas a los químicos usados como control es grande y ampliamente distribuida en el mundo. Los mecanismos de resistencia discutidos por Vander Kerk, 1971 y Dekker, 1972 muestran varios sitios de acción a nivel celular. Dekker sugiere que la resistencia a químicos sintéticos es adquirida de cepas sensitivas normales. Estudios recientes en Botrytis cinerea por Chastagner, Ogawa y Peters (4), indican que la resistencia a Benomyl se presenta naturalmente en poblaciones silvestres como se determinó por exposición de esporas del hongo a medios sintéticos a los cuales se les incor-

poró Benomyl (25), sin embargo, la tesis de que cepas resistentes pueden desarrollarse a partir de cepas sensitivas a través de mutaciones después de exposiciones a los químicos debe ser mejor estudiada.

Maraite, (20), indica que la rápida formación de poblaciones de B. cinerea Pers ex Pers., resistentes a los fungicidas del grupo benzimidazole en campos de fresas tratados con estos compuestos y la subsecuente pérdida de efectividad y declinación en el uso de éste, (26) ha hecho necesaria una adecuada evaluación ante el riesgo de desarrollo de resistencia de los fungicidas del grupo dicarboximide introducido recientemente tales como el iprodione, procymidone y vinclozolin.

Maraite, (21), muestra el gran potencial de B. cinerea para desarrollar resistencia a los fungicidas del grupo dicarboxymide. Sin embargo, no está aún claro si la resistencia es el resultado de mutaciones espontáneas o si es inducida por el fungicida.

El hecho de que la resistencia a estos fungicidas (dicarboxymide) ha sido observada en pocos casos en el campo (20), (21), comparado con el potencial observado in vitro puede ser parcialmente explicado por la generalmente baja capacidad saprofitica y patogénica de cepas resistentes seleccionadas in vitro .

Meyer (22), indica como tan pronto apareció el Benomyl se reportaron fallas en el control de las enfermedades causadas por B. cinerea en Bélgica. La tolerancia fué sospechada y finalmente confirmada mediante pruebas in vitro por Bollen and Scholten, 1971; Ehrenhardt, 1973; Jarvis and Hargreaves, 1973; Miller and Fletcher, 1974 (22).

El porcentaje de germinación de las conidias de B. cinerea alcanzó un máximo entre 6 y 8 horas después de iniciada la incubación (5).

Cepas de B. cinerea resistentes a dicarboximide fueron fácilmente seleccionadas in vitro por Leroux . Sin embargo, la resistencia está frecuentemente unida a una reducción de las habilidades saprofiticas y patogénicas del hongo y permanece estable en cultivos mezclados con cepas sensitivas, siempre en ausencia de fungicidas. Esto es un reto de desarrollo de resistencia de estos fungicidas promisorios en campos poblados de B. cinerea con la posible consecuencia de reducir su efectividad en el control del hongo (21).

En los estudios realizados por Maraite (21), la germinación fué chequeada bajo el microscopio después de 12- 24 horas de incubación para revelar cualquier heterogeneidad en la sensibilidad al fungicida. El crecimiento macroscópico fué chequeado después de 7 - 14 días observando variaciones en la rata de crecimiento, capacidad de esporulación y forma-

ción de esclerocios, observándose que debido a la amplia dispersión de la resistencia a fungicidas benzimidazole; la mayoría de las cepas resistentes a vinclozolin fueron también resistentes a Benomyl. Esta resistencia parece ser adicional y no cruzada. Por ejemplo: las cepas 78/2v y 79/83 son sensibles a Benomyl.

La posibilidad de aparición de resistencia a dicarboximide en el campo fué prevista de los estudios in vitro realizados por Maraite (21), los cuales demostraron con pocas excepciones que por regla general cepas con alto nivel de resistencia poseen bajas habilidades saprofiticas y patogénicas comparadas con los aislamientos parentales de los cuales se seleccionaron. Se vé la necesidad inmediata de desarrollar estrategias de prueba tendientes a evitar o demorar la dispersión de la resistencia a dicarboximide.

Presly y Maude (27), reportan crecimiento normal de aislados de Botrytis cinerea en agar que contenía 1.000 Mg/ml de Benomyl. La emergencia de aislamientos del hongo insensibles a compuestos basados en benzimidazoles, (Benomyl) usados en tratamientos de semillas indican que este fungicida no provee una solución permanente en el control de esta enfermedad fungosa.

Nelson, R.D., 1974 ha demostrado que campos de fresas afectados con

Botrytis resistentes a Benomyl en un 80% la redujeron a menos de un 10% mediante la fumigación al suelo con metil bromuro y cloropicrina. (25).

Estudios realizados por Mc.Cain y Anderson muestran que los Botrytis resistentes a Benomyl fueron más sensibles a químicos como Thi-ran y Mancozeb, en ensayos de laboratorio, que las cepas no resistentes. Así se espera una gran reducción de cepas resistentes mediante el uso de un fungicida alternado. Muy pocas cantidades del químico se requieren para que haya inhibición (0.1 p.p.m. de Benomyl) (25).

El uso repetido y continuado de Benomyl puede resultar en la selección y desarrollo de ciertas poblaciones resistentes a los patógenos controlados, con la correspondiente disminución en la eficacia del fungicida. Si siguiendo las recomendaciones del caso, el control con Benomyl no es efectivo, es posible que una raza tolerante del hongo patógeno esté presente e inmediatamente debe considerarse el uso de otros fungicidas apropiados .

2.3 EL AÑUBLO DEL ARROZ Y SU CONTROL CON EL ANTIBIOTICO KASUGAMICINA.

En Colombia, el cultivo del arroz ocupa un renglón de mucha importan-

cia en la economía agrícola. La producción de arroz además de cubrir las necesidades nacionales genera excedentes exportables del grano. De otra parte, los problemas fitosanitarios del cultivo del arroz en el país son cada vez mayores ocasionando pérdidas en los rendimientos y demeritando la calidad del grano.

Las cosechas de arroz disminuyen sensiblemente, como consecuencia de las lesiones provocadas por los patógenos fungosos, causantes de las enfermedades. Las pérdidas dependen de la variedad sembrada, la intensidad del ataque y la zona de cultivo.

La piricularia, bruzone o añublo, es la enfermedad que más seriamente afecta los arrozales. Se encuentra extendida en todas las zonas arroceras del país y constituye un factor limitante para la producción. La enfermedad es causada por el hongo Pyricularia oryzae. El patógeno ataca todas las partes aéreas de la planta: hojas, nudos, cuello y panículas e incluso las raíces cuando éstas son inoculadas artificialmente. (35).

La presencia de esta enfermedad se ha constatado en más de 60 países del mundo, en Colombia de acuerdo a los datos reportados por Gálvez y Castaño, (12) causa pérdidas del 10 al 95% dependiendo de las variedades empleadas y de las condiciones ambientales que existan en la zo-

na.

Kasugamycina es un antibiótico ampliamente usado en el Japón para el control del tizón del arroz, causado por Pyricularia oryzae Cavara. En 1971 se presentaron cepas naturales de P. oryzae resistentes a Kasugamycina en campos de arroz en cáscara donde el control con Kasugamycin había fallado. (Miura, H., 1975 y 1976) (32).

La resistencia a Kasugamycina en el mismo organismo fué reportada primero por Ohmori 1967, quien seleccionó cepas resistentes in vitro y mostró que el carácter resistente no se perdía después de sucesivas transferencias en medio libre de antibióticos. Esta estabilidad sugiere que la resistencia a Kasugamycin es genética en la naturaleza. Ni el modo de heredabilidad ni la existencia de genes resistentes han sido investigados.

Varios investigadores (Kato, 1976; Veyama, 1975; Yaegashi, 1976) han reportado la formación de estado perfecto de P. oryzae en medios artificiales. (32).

Taga (31), en su trabajo sobre identificación de tres loci diferentes que controlan la resistencia a Kasugamycin en Pyricularia oryzae reporta que los siguientes investigadores también han encontrado resistencia

a Kasugamycina en dicho hongo. Ellos son: Ito y Yamaguchi 1977 en su trabajo sobre "Ocurriencia de resistencia a Kasugamycina en el hongo causante del añublo del arroz influenciada por aplicación del fungicida", Miura, Ito y Takahashi, 1975 en su trabajo sobre "Cepas resistentes de Pyricularia oryzae a Kasugamycina como causa de la disminución de la actividad fungicida en añublo del arroz"., Miura et al 1976 con la publicación sobre "Modo de acción de la resistencia a Kasugamycina en el hongo causante del añublo del arroz"., Ohmori, 1967 en su "Estudio de las características de Pyricularia oryzae que lo hacen resistente a Kasugamycina.", Sakurai 1975, en su "Estudios sobre resistencia cruzada de antibióticos antifúngicos en cepas resistentes a Kasugamycina de Pyricularia oryzae Cavara" y Vesugi 1969, en su trabajo sobre "Resistencia en Pyricularia oryzae a antibióticos y fungicidas organofosforados.

En su trabajo, Taga (31), obtuvo cepas resistentes a 100 Mg/ml de Kasugamycina y blasticidin S, respectivamente. La resistencia o sensibilidad de los aislamientos fué determinada después de seis días de incubación a 27°C sobre la base del crecimiento micelial. La resistencia a Kasugamycina casi siempre está ligada con la resistencia a Blasticidin S y las progenies sensitivas fueron sensibles a ambos químicos.

En su trabajo realizado en 1974, Gálvez y Castaño (12) ya reportan pér-

cidas de la eficiencia en el control de la enfermedad con Kasugamicina en Colombia, aunque Villarraga en 1979 lo reporta todavía como eficiente en el control de P. oryzae.

2.4 EVALUACION DE FUNGICIDAS EN EL LABORATORIO

Entre los métodos utilizados para combatir las enfermedades de las plantas figuran el control cultural y el control químico, como alternativas a este control químico figuran técnicas culturales que incluyen rotación de cultivos, uso de semillas libres de patógenos, erradicación de plantas enfermas y uso de variedades resistentes; sin embargo el control de las enfermedades en las plantas por químicos data desde 1.000 años antes de Cristo, utilizando azufre para controlar epidemias.

Como el número de productos químicos fungitóxicos ha tenido un alto incremento en los últimos años, se hace patente la necesidad de métodos rápidos de evaluación relacionados con la interacción hongo producto químico y hongo producto químico - hospedero. (1).

Ogawa, (25) indica que de los 113 fungicidas y bactericidas conocidos hasta el momento 34 de ellos han presentado resistencia ya sea en el campo o en el laboratorio y el 77% de estos químicos fué introducido al país entre 1.930 y 1.970.

Se han encontrado los siguientes reportes de tolerancia a fungicidas en el laboratorio:

Pyricularia oryzae a Kasugamicina por Ohmori, 1966; P. oryzae a Blastocidin S. por Nakamura, 1966 y Botrytis cinerea a Benomyl por Watson, 1973 entre otros. (25).

Las pruebas de laboratorio contribuyen a la detección temprana de resistencia antes de que se presente una epifitotia, y dan la oportunidad de cambiar los químicos empleados en el control para evitar el desarrollo de una resistencia futura. Los fungicidas que más problemas presentan en este aspecto son los sistémicos pues su toxicidad está restringida a un sitio específico de acción dentro del hongo y un simple cambio en este puede resultar en resistencia al químico. El problema de la resistencia es relativamente reciente y asociado con nuevos productos. (11).

En el laboratorio la fungitoxicidad de un químico es usualmente medida por el grado de desarrollo de la colonia o por la supresión de la germinación de las esporas de acuerdo a Hall (14) además de la respiración del hongo en estudio según Tongeson citado por Achicanoy.(1).

Los métodos modernos de pruebas de fungicidas en el laboratorio son

rápidos y permiten una reproducción de resultados que hace posible predecir con cierta seguridad el valor protectante del fungicida probado, eliminando las pruebas costosas de químicos en el campo, retirando los candidatos no exitosos mediante pruebas precisas contra patógenos específicos . (28).

Los estudios de laboratorio "in vitro" proveen una información confiable acerca de la fungitoxicidad contra un patógeno específico y pueden ser usados como consideraciones preliminares de la compatibilidad del fungicida seleccionado con insecticidas estandar. Además los resultados de los estudios " in vitro" dan la base para futuras pruebas " in vivo" y en el campo . (28).

Los diferentes métodos utilizados para evaluar la actividad fungicida de los productos químicos en el laboratorio han sido estandarizados por la Sociedad Fitopatológica Americana y están basados en los siguientes principios :

1. Suspender las esporas en soluciones o suspensiones del producto de prueba observando crecimiento o germinación.
2. Incorporar el fungicida a un medio artificial de cultivo sobre el cual se coloca el inóculo observando posterior crecimiento micelial .

3. Exponer suspensiones de esporas a soluciones fungicidas sobre porta-objetos colocados en cámaras húmedas registrando posteriormente el porcentaje de germinación. Mc.Callan citado por Achicanoy (1).

3. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Centro Regional de Investigación "Tibaitatá" del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, localizado en el municipio de Mosquera, Cundinamarca.

3.1 ESTUDIO DEL PODER INHIBIDOR DE FUNGICIDAS SOBRE CRECIMIENTO MICELIAL.

3.1.1 Obtención de Inóculo.

El inóculo de Phytophthora infestans proviene de dos localidades, una parte fué enviada del Centro Regional de Investigación "La Selva", ICA., en tubérculos de papa variedad Guantiva y la otra parte se obtuvo de aislamientos realizados de material enfermo procedente de cultivos de papa variedad Parda pastusa del Centro Regional de Investigación "Tibaitatá", ICA.

De rosas de la variedad "Bingo" cultivadas en el vivero Sabanilla en el Municipio de Mosquera, Cundinamarca, se tomó el inóculo de Botrytis cinerea causante del moho azul de estas flores.

Las pruebas de Pyricularia oryzae se hicieron con cepas provenientes del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), aisladas de la variedad de arroz IR 22.

Es de anotar que todo el inóculo utilizado en la realización de las diferentes pruebas proviene de sitios en los cuales se está aplicando el producto a evaluar.

3.1.2 Medios Artificiales de Cultivo .

Se utilizaron medios de cultivo selectivos para cada hongo.

El hongo causante de "la gota de la papa" se cultivó sobre agar-dextrosa-avena. Con el objeto de lograr buena esporulación se hicieron inoculaciones sobre erlenmeyers con alverja estéril. (33).

El medio utilizado para los cultivos de Botrytis cinerea fué el PDA (33).

Los aislamientos de Pyricularia oryzae se mantuvieron en medios de agar-dextrosa-agua de coco obteniendo buenos resultados. (33).

3.1.3 Preparación de las Soluciones Fungicidas e Incorporación al Medio de Cultivo .

Los productos de prueba están siendo utilizados actualmente en el control del hongo específico.

Los fungicidas cuyo ingrediente activo es el Metalaxyl y el Benomyl fueron disueltos previamente en acetona debido a su baja solubilidad en agua y de acuerdo a las dosis requeridas 500, 1.000, 1.500 y 2.000 Mg/ml (tomando como dosis de base la máxima recomendada por la casa comercial), se incorporaron a los respectivos medios una vez que éstos fueron sacados del autoclave antes de solidificarse, las soluciones del fungicida no se esterilizaron. Posteriormente fueron vertidos estos medios en cajas de Petri, todo este procedimiento se realizó dentro de la cámara de aislamientos con cristalería estéril para evitar contaminaciones.

Como el fungicida cuyo ingrediente activo es la Kasugamicina viene en formulación líquida, el volumen correspondiente a cada dosis de producto químico fue descontado del volumen inicial de agua con que se preparó el medio de cultivo con el objeto de mantener las dosis requeridas en el medio, procediendo posteriormente de la misma manera que con los otros productos. La dosis mínima de producto en este

caso fué la dosis comercial recomendada para equipo de arrastre equivalente a un litro de producto en 200 lts de agua. Se usaron dosis de 5, 10, 20 y 40 ml/ml.

3.1.4 Inoculación.

En el centro de cada una de las cajas de Petri (10 replicas de cada tratamiento) que contienen la respectiva dosis de producto químico incorporado al medio de cultivo se colocó un segmento micelial de 0.5 cm de lado proveniente de la zona micelial periférica de colonias jóvenes del hongo respectivo aislado sobre el medio de cultivo específico. Efectuada la inoculación de manera aséptica, se procedió a incubar las cajas de Petri a temperatura ambiente en el laboratorio pues se observó mejor desarrollo de los hongos a esta temperatura (mínimo 6°C, máximo 30°C) que en la incubadora a temperatura constante de 12, 20, 24 o 28°C y suministro normal de luz.

Los testigos absolutos se inocularon sobre medios sin solución fungicida.

3.1.5 Registro de Datos .

Para cuantificar las observaciones sobre crecimiento micelial se to-

mó diariamente el diámetro de la colonia fungosa en cada una de las replicas de las correspondientes dosis de cada tratamiento y en los testigos, hasta alcanzar el lleno de la caja de Petri .

Algunos autores, entre ellos Vicent (citado por Achicanoy (1)), registran este dato promedio de los diámetros en porcentaje de inhibición del crecimiento mediante la siguiente ecuación :

$$I = \frac{100 (T - t)}{T}$$

Donde: I = Inhibición

T = Tasa de crecimiento del hongo testigo en mm/ 5 días.

t = Tasa de crecimiento del hongo tratado en mm / 5 días.

100 = Factor de conversión o porcentaje .

3.2 ESTUDIO DEL PODER INHIBIDOR DE FUNGICIDAS SOBRE LA ESPORULACION.

Hacia los 7, 15 y 30 días de incubación respectivamente de Botrytis , Phytophthora y Pyricularia se registró el dato de la cantidad promedio de esporas producida en cada una de las dosis de los diferentes tratamientos (10 réplicas) y de los testigos, mediante el uso del hemocitómetro . A cada caja de Petri con colonia fungosa se agregaron 10 ml de agua destilada estéril y mediante agitación y posterior raspado de

la colonia se recupera la suspensión, se toman dos alicuotas depositándolas en el área de conteo del hemocitómetro .

El resultado de la esporulación se expresa en conidias/ml así:

$$N = \frac{n \cdot 1000}{V} D$$

Donde:

N=número de conidias /ml.

n=número de conidias contado en un área determinada del hemocitómetro.

V=volúmen del área determinada en el hemocitómetro.

D= dilución empleada.

1.000=factor de conversión a ml.

Para el caso de Phytophthora infestans se tuvo también en cuenta la formación de zoosporas, además de la de esporangios.

3.3 ESTUDIO DEL EFECTO INHIBIDOR DE FUNGICIDAS SOBRE LA GERMINACION DE ESPORAS.

Sobre placas porta-objetos se colocó una gota de la respectiva solución de fungicida (10 placas por dosis) inmediatamente después se colocó encima una gota de la suspensión respectiva de esporas y se incu-

bó a temperatura ambiente en cámara húmeda registrando datos de germinación de esporas y longitud de tubos germinativos cada dos horas.

En P. infestans se trabajó con esporangios y zoosporas y en P. oryzae se tuvo en cuenta la longitud promedio de los diferentes tubos de germinación de cada espora.

Se considera germinado un conidio cuando la longitud del tubo germinativo es igual o mayor al diámetro del mismo. Además se realizaron observaciones sobre posible deformación de los conidios y del tubo germinativo.

3.4 PROCESO ESTADISTICO.

El diseño experimental utilizado en el presente trabajo fué "completamente al azar con arreglos factoriales".

4. RESULTADOS

4.1 EFECTO DEL FUNGICIDA METALAXYL EN EL DESARROLLO DE Phytophthora infestans "in vitro".

El crecimiento micelial se registró periódicamente como puede observarse en la Tabla No. 1 para las dos localidades.

En los primeros 15 días se presenta un ligero incremento en el diámetro de las colonias tratadas con las primeras dosis del fungicida en la primera localidad. La última lectura realizada a los 30 días reporta un crecimiento indiferencial de las colonias en cualquiera de las dosis.

Para el caso de los aislamientos provenientes de "La Selva" no hay diferencias en la rata de crecimiento micelial después de los 15 días de incubación de las colonias en cajas de Petri.

Como puede observarse en la Figura 1, las curvas de crecimiento del hongo son similares en los diferentes tratamientos y localidades.

En cuanto a la producción promedio de esporangios en Tibaitatá se obtuvo una mayor producción de esporangios/ml con el empleo de do-

AISLAMIENTO DE "LA SELVA"

AISLAMIENTO DE "TIBAITATA"

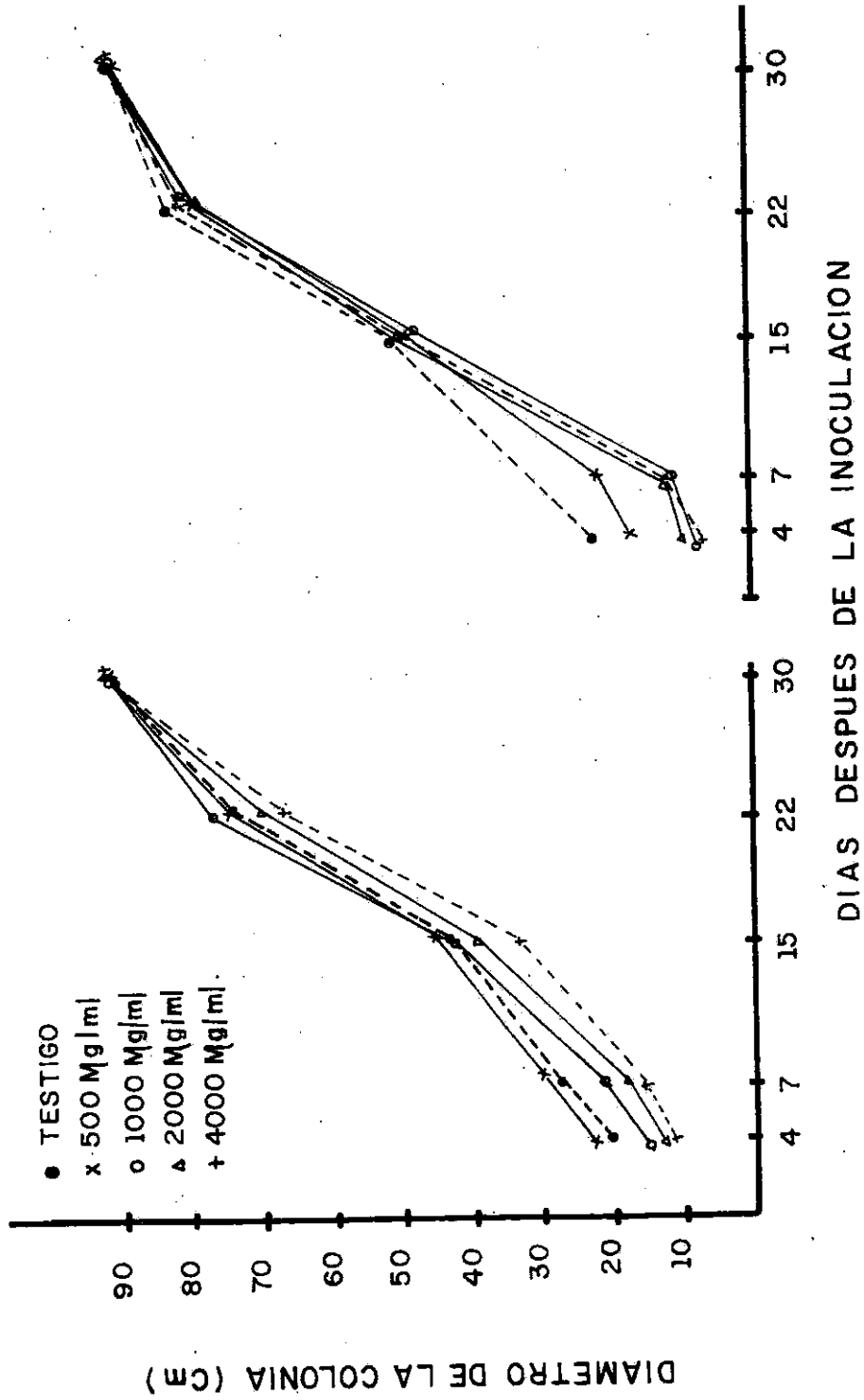


FIG. 1 EFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE METALAXYL SOBRE CRECIMIENTO MICELIAL DE PHYTOPHTHORA INFESTANS

TABLA 1. EFECTO DE DIFERENTES DOSIS DE METALAXYL EN EL CRECIMIENTO MICELIAL Y ESPORULACION DE Phytophthora infestans "in vitro"

Localidad--	Diámetro promedio de las colonias (cm)										Producción promedio de esporangios /ml.	
	Tibaitatá					La Selva					Tibaitatá	La Selva
T (días) -	4	7	15	22	30	4	7	15	22	30	30	30
Dosis Mg/ml												
0	2.0	2.5	4.1	7.3	9.0	2.2	3.0	5.0	8.3	9.0	800	1.000
500	2.2	2.8	4.2	7.3	9.0	1.6	2.0	4.7	8.3	9.0	1.900	3.200
1.000	1.4	2.0	4.0	7.5	9.0	0.8	1.0	4.9	7.9	9.0	5.600	6.500
2.000	1.3	1.6	3.7	6.8	9.0	0.8	1.0	4.8	7.8	9.0	1.800	6.800
4.000	1.1	1.5	3.2	6.5	9.0	0.7	1.0	4.7	8.0	9.0	3.000	8.000

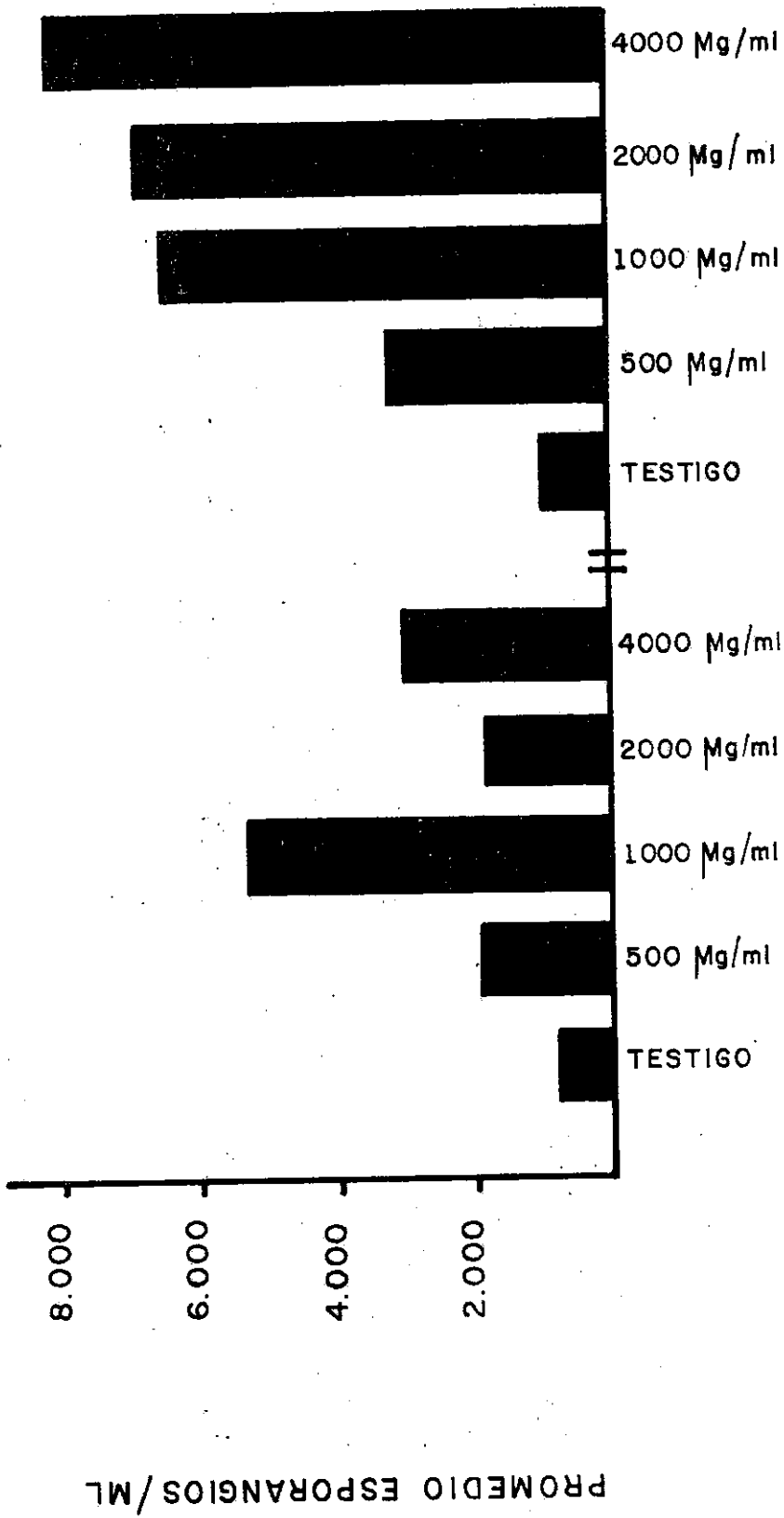
sis correspondientes a 1.000 Mg/ml, número que disminuyó al incrementar la dosis.

Los aislamientos provenientes de la segunda localidad muestran un incremento progresivo en la esporulación a medida que se incrementa la dosis del fungicida.

En todos los casos la esporulación fué mayor en los tratamientos con respecto al testigo como puede observarse en la Figura 2.

El porcentaje de liberación de zoosporas en Tibaitatá fué sensiblemente mayor en las dos primeras dosis empleadas con relación al testigo obteniéndose buen porcentaje de motilidad en todos los casos de acuerdo a los datos provenientes de la Tabla 2.

El porcentaje de germinación se vió incrementado en ambas localidades con el empleo de dosis de 500 Mg/ml del producto y los tubos germinativos presentaron una longitud efectiva en todos los tratamientos .



AISLAMIENTOS "TIBAITATA" AISLAMIENTOS "LA SELVA"

FIG. 2. EFECTO DE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE METALAXYL SOBRE LA FORMACION DE ESPORANGIOS DE P. INFESTANS "IN VITRO" LAS LECTURAS SE REALIZARON EN CULTIVOS DE 30 DIAS DE EDAD, PROMEDIO DE 5 AISLAMIENTOS EN CADA CASO.

TABLA 2. COMPORTAMIENTO DE Phytophthora infestans PROVENIENTE DE DOS LOCALIDADES ANTE DIFERENTES DOSIS DE METALAXYL " in vitro".

Dosis Mg/ml	TIBAITATA			LA SELVA		
	% liber. zoosp	% Mot.	% Germ. Long. Mm.	% liber. zoosp.	% Mot	% Germ. Long. Mm.
0	100	100	100 3.5	100	100	100 6.0
500	109	100	106 4.0	80	100	102 6.0
1.000	109	87	100 4.0	92	100	104 5.6
2.000	100	87	96 2.0	76	81	90 3.0
4.000	97	75	90 2.0	60	75	80 3.5

Los porcentajes se tomaron con respecto al testigo.

El registro de liberación de zoosporas y motilidad se hizo a las tres horas de incubación y el porcentaje de germinación y longitud de tubos germinativos se tomó a las 20 horas.

4.2 EFECTO DEL FUNGICIDA BENOMYL EN EL DESARROLLO DE Botrytis cinerea " in vitro".

Los estudios realizados con Botrytis cinerea nos indican una mayor velocidad de crecimiento de los aislamientos no tratados con el fungicida con respecto a los tratados pues como se reporta en la Tabla 3 hacia los cinco días de incubación los testigos alcanzaron el borde de la caja de Petri mientras que los demás aislamientos lo hacían progresivamente pero, a los siete días no hubo diferencias de crecimiento a pesar de utilizar dosis hasta de 4.000 Mg/ml del producto incorporado al medio de cultivo.

La esporulación no se vió inhibida con ninguna de las dosis empleadas, presentándose buena germinación en todos los casos.

La Figura 3 nos muestra una inhibición del crecimiento micelial solamente de 96 horas a la mayor dosis empleada. Hacia las 172 horas todos los tratamientos han alcanzado el máximo de crecimiento permitido en las cajas de ensayo.

TABLA 3. COMPORTAMIENTO DEL HONGO Botrytis cinerea Pers. ANTE EL FUNGICIDA BENOMYL EN PRUEBAS DE LABORATORIO.

Tiempo/hr.	DIAMETRO DE LA COLONIA (cm)						Conidias ml	Germinación %	Longitud M.m.
	24	48	72	96	120	144			
Dosis Mg/ml							6 dias	12 horas	12 horas
0	0	2.8	5.0	8.3	9.0	*	120.000	100	4.8
500	0	0	1.0	3.8	5.5	9.0	90.000	100	6.0
.000	0	0	0.8	2.0	3.0	8.4	83.000	100	5.1
.000	0	0	0	1.0	2.5	7.5	80.000	95	4.5
.000	0	0	0	0	1.2	6.8	82.000	95	4.5

Al quinto día el diámetro de la colonia fué superior al diámetro de la caja de Petri.

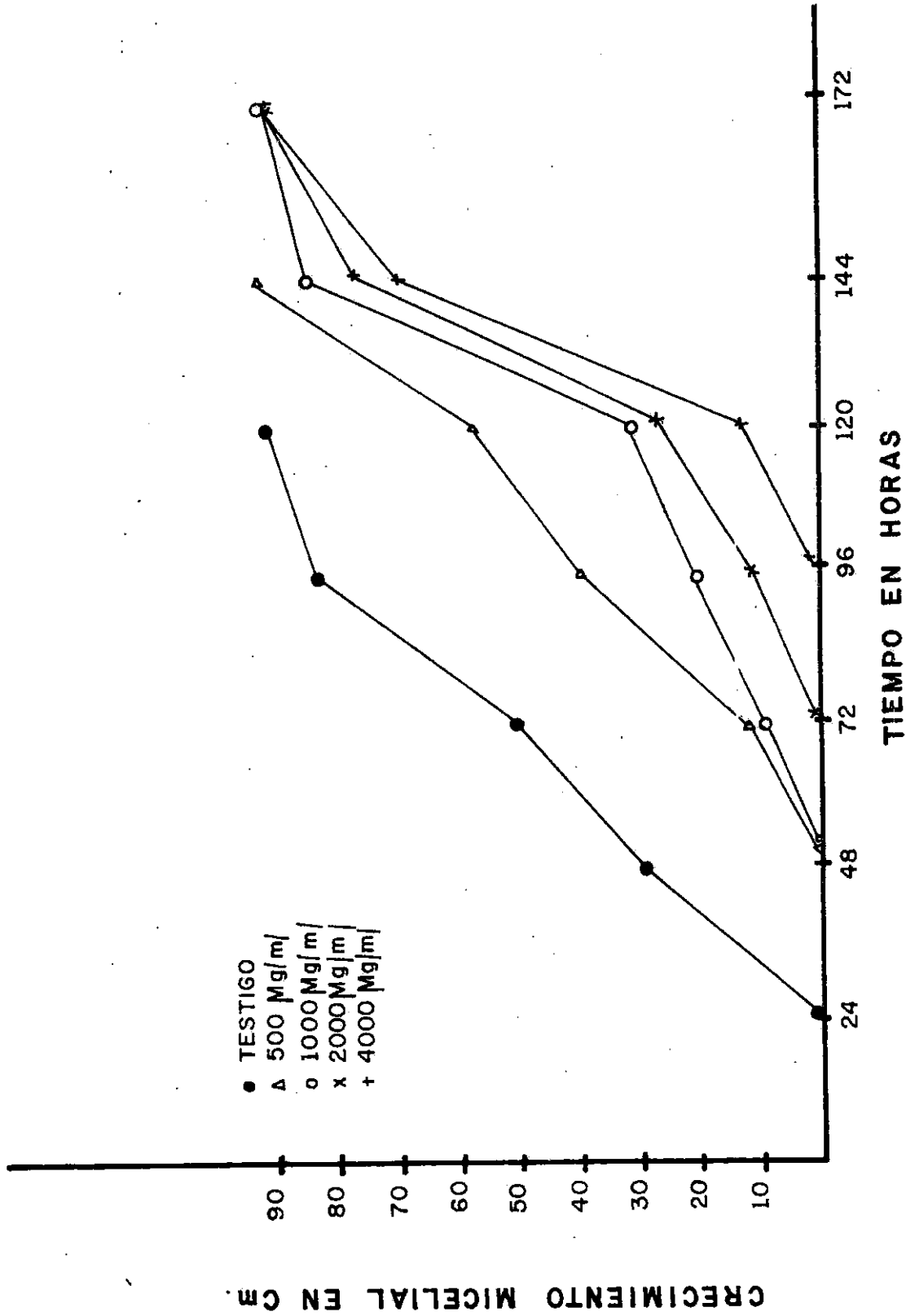


FIG. 3 CRECIMIENTO MICELIAL "IN VITRO" DE BOTRYTIS CINEREA EN RELACION AL TIEMPO DE INCUBACION Y A LA DOSIS DEL FUNGICIDA.

4.3 EFECTO DEL ANTIBIOTICO KASUGAMICINA EN EL CONTROL DE Pyricularia oryzae " in vitro"

Las pruebas realizadas con Pyricularia oryzae nos muestran según la Tabla 4 un crecimiento paulatinamente menor a medida que se incrementa la dosis del fungicida pero tampoco hubo inhibición total del crecimiento a las mayores dosis utilizadas .

La producción de conidias se ve disminuída a medida que se incrementa la dosis del antibiótico sin lograrse tampoco inhibición completa en la esporulación a la mayor dosis .

En todos los tratamientos se presentó una germinación eficiente.

De la Figura 4 se puede predecir una correlación positiva entre el crecimiento micelial y la esporulación

4.4 COMPORTAMIENTO INHIBITORIO DE LOS FUNGICIDAS PROBADOS.

De acuerdo a los datos presentados en la Tabla 5, el crecimiento micelial no se ve inhibido a ninguna de las dosis empleadas de los fungicidas Metalaxyl y Benomyl . Kasugamicina presentó un porcentaje de inhibi-

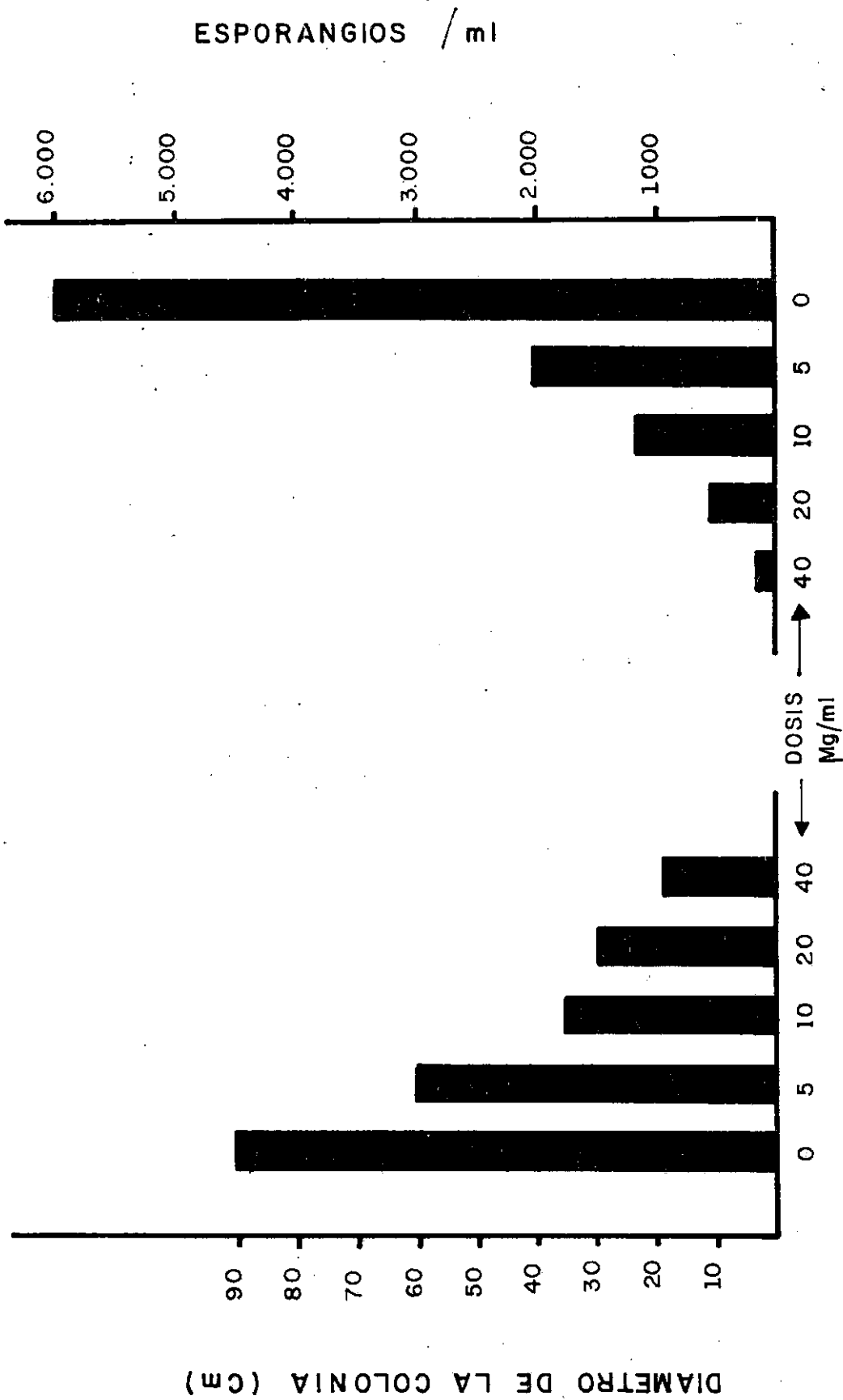


FIG. 4. EFECTO DEL FUNGICIDA KASUGAMICINA EN EL CRECIMIENTO MICELIAL Y ESPORULACION DE PYRICULARIA ORYZAE "IN VITRO".

TABLA 5. COMPORTAMIENTO INHIBITORIO DE LOS FUNGICIDAS PROBADOS

FUNGICIDA (dosis)	1°	2°	3°	4°	1°	2°	3°	4°	1°	2°	3°	4°
METALAXYL	0	0	0	0	- 137.5	-600	-125	-275	- 6	0	4	10
BENOMYL	0	0	0	0	- 220	-550	-580	-700	- 2	- 4	10	20
KASUGAMICINA	34	62	67	80	25	31	34	32	0	0	5	5
					67	80	90	97.5	30	33	50	55

La inhibición del crecimiento micelial en Phytophthora y Pycularia se registró a los 30 días y en Botrytis a los siete días .

Los cálculos de inhibición del crecimiento micelial, esporulación y germinación fueron obtenidos utilizando la formula de Vicent (1).

La esporulación y germinación está dada para las dos localidades, los números de arriba corresponden a Tibatá.

TABLA 4. COMPORTAMIENTO DEL HONGO Pyricularia oryzae Cav. ANTE EL ANTIBIOTICO KASUGAMICINA EN

PRUEBAS " in vitro ".

DOSIS µl/ml.	DIAM. COLON, cm	CONIDIAS /ml.	GERMINACION %	LONGITUD M m.
0	9.0	6.000	100	100
500	6.0	2.000	70	80
1.000	3.5	1.200	67	50
2.000	3.0	600	50	50
4.000	1.8	150	45	30

El registro del crecimiento micelial y la esporulación se hizo cuando los tratamientos testigo alcanzaron el lleno de la caja de Petri (30 días). El porcentaje de germinación y la longitud de los tubos germinativos se registró a las 48 horas de incubación

ción mayor a medida que se incrementó la dosis sin llegar a inhibirlo por completo.

Los análisis realizados con Metalaxyl revelan un porcentaje negativo de inhibición de la esporulación, se ve que el fungicida favorece la esporulación. Los otros dos químicos probados presentan inhibición de la esporulación siendo menor este porcentaje en el caso de Botrytis.

Las primeras dosis de Metalaxyl no inhiben la germinación en ninguna de las localidades. Benomyl presenta un porcentaje de inhibición muy pobre a altas dosis y Kasugamicina logra un incremento en el porcentaje de inhibición de la germinación a medida que se incrementa la dosis del producto.

4.5 ANALISIS ESTADISTICO.

Al realizar el análisis de varianza se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos entre sí de los aislamientos provenientes de Tibaitatá en todas las variables registradas a excepción de la germinación.

Los aislamientos provenientes de "La Selva" revelan diferencias significativas entre los tratamientos a nivel de longitud del tubo germinati-

vo y esporulación (Tabla 6).

Es de anotar que el hongo creció y se desarrolló bien en los diferentes tratamientos en ambas localidades.

La prueba de Duncan presentada en la Tabla 7 nos dá datos más precisos sobre el comportamiento de Phytophthora infestans ante Metalaxyl.

Los resultados obtenidos en la Tabla 8 nos indican diferencias altamente significativas en la germinación y longitud del tubo germinativo. Los tratamientos 1, 2 y 3 de la primera variable cifrieron ampliamente de los tratamientos 4 y 5. La longitud del tubo germinativo fué significativamente diferente en los tratamientos 2, 3 y 4.

En cuanto a la esporulación podemos decir que el hongo se comportó de manera significativamente diferente en los tratamientos 1 y 4

Aplicado el análisis de varianza (Tabla 9) se observa que hay diferencias altamente significativas en cuanto a la germinación de las esporas de Pyricularia en los diferentes tratamientos. El test de Duncan nos revela que el primer tratamiento es significativamente diferente de los tratamientos 2 y 3 los cuales no revelan una diferencia significativa entre ellos pero sí con respecto a los tratamientos 4 y 5 semejantes entre sí.

TABLA 6. ANALISIS DE VARIANZA PARA IDENTIFICAR EL EFECTO DEL METALAXYL SOBRE

Phytophthora infestans

Variable	Aislamientos de Tibaitatá	Aislamientos de La Selva	INTERACCION ENTRE LAS DOS LOCALIDADES.
Liberación de zoosporas	**	N.S.	**
Motilidad	**	N.S.	N.S.
Germinación	*	N.S.	N.S.
Longitud tubo germinativo	**	**	**
Esporulación	**	**	**

Al nivel de significancia del (1%)
 ** : Diferencia altamente significativa
 * : Diferencia significativa
 N.S. : No hay diferencia significativa .

TABLA 7. PRUEBA DE DUNCAN: METALAXYL Vs. Phytophthora

Variable	Tratamiento	Promedio	Agrupación
Liberación de zoosporas	2	18.97	A
	3	18.38	A B
	1	16.56	C B
	4	16.27	C
	5	14.79	C
Motilidad	1	53.66	A
	2	53.51	A
	3	48.91	A B
	4	42.52	C B
	5	37.03	C
Germinación	2	31.67	A
	3	28.83	A B
	1	28.39	A B
	4	26.10	C B
	5	24.20	C
Longitud del tubo germinativo	2	5.00	A
	3	4.80	A
	1	4.75	A
	5	2.75	B
	4	2.66	B
Esporulación	3	75.25	A
	5	72.45	B
	4	62.46	C
	2	49.51	D
	1	29.16	E

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes . $\alpha = 0.05$

TABLA 8. ANALISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE DUNCAN PARA IDENTIFICAR EL EFECTO DEL BENOMYL SOBRE Botrytis sp. AISLADO DE ROSAS.

Variable	Significancia $\alpha = 0.05$	Tratamiento	Promedio	Agrupación
Germinación	**	5	72.05	A
		4	55.73	A
		1	5.73	B
		2	5.73	B
		3	5.73	B
Longitud del tubo germinativo	**	2	60.00	A
		3	51.33	B
		1	48.00	B C
		5	45.00	B C
		4	42.42	C
Esporulación	N.S.	1	10.92	A
		2	9.47	A B
		3	9.10	A B
		5	9.05	A B
		4	6.92	B

Interacción entre tratamientos al nivel del (1%)

** : Diferencia altamente significativa

NS: No hay diferencia significativa

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Nota: El crecimiento micelial fue significativamente diferente en cada uno de los distintos tiempos de medición pero después de los 7 días de incubación no hubo diferencias significativas.

TABLA 9. ANALISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE DUNCAN PARA IDENTIFICAR EL EFECTO DE KASUGAMICINA SOBRE Pyricularia.

Variable	Significancia $\alpha = 0.05$	Tratamiento	Promedio	Agrupación
Germinación	**	1	23.57	A
		2	16.26	B
		3	15.66	B
		4	11.53	C
		5	10.36	C
Longitud del tubo germinativo	**	1	100.00	A
		2	80.00	B
		3	50.00	C
		4	50.00	C
		5	30.00	D
Esporulación	**	1	76.41	A
		2	44.72	B
		3	34.55	C
		4	24.43	D
		5	12.23	E
Diámetro de la colonia	**	1	9.00	A
		2	6.00	B
		3	3.50	C
		4	3.00	C
		5	1.80	D

Interacción entre tratamientos al nivel del (1%)
 ** : Diferencia altamente significativa

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

En cuanto a la longitud del tubo germinativo la diferencia entre tratamientos es altamente significativa . Duncan indica que los tratamientos 3 y 4 tuvieron comportamientos semejantes en cuanto a esta variable.

La esporulación también presentó diferencias altamente significativas para todos los tratamientos observándose un comportamiento diferente significativamente en cada uno de los tratamientos probados .

El diámetro de la colonia se comportó estadísticamente de manera similar tal como se observa en la Tabla 9 . En cuanto a esta variable no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos 3 y 4.

5. DISCUSION

Las pruebas "in vitro" realizadas con Metalaxyl indican pérdida de eficacia de este fungicida sistémico en el control del hongo causante de la gota de la papa, corroborando los datos obtenidos en los trabajos de campo y experimentación de laboratorio realizados por Navarro, Puerta y Pérez en el Centro Regional de Investigación "La Selva" ICA 1981 y los datos reportados por Davidse 1981 (8) los cuales acusan a la ineffectividad del fungicida, a pesar de haber sido usado en las dosis e intervalos recomendados, como causante de la erupción de una epidemia de gota en Holanda en 1980 la cual dió como resultado pérdidas financieras considerables para muchos cultivadores de papa .

Cohen y Reuveni 1979 (6) examinando la actividad antifúngica del Metalaxyl sobre Phytophthora en tomate observaron que el porcentaje de zoosporas liberadas de los esporangios no fué afectado por dosis hasta de 25 Mg/ml, datos que permiten predecir una pérdida inicial en el manejo del hongo por parte del fungicida pues en el presente trabajo se encontró liberación de zoosporas de manera más o menos normal (30 a 50%) hasta dosis de 4.000 Mg/ml.

También Cohen y Reuveni 1979 (6) indican como Metalaxyl fué ligeramente tóxico de esporangios y zoosporas de Phytophthora infestans

pero cuando se mezcló con inóculo fungal no previno la penetración en el tejido de la hoja a pesar de ser aplicado a altas concentraciones.

En los aislamientos provenientes de "La Selva" , Antioquia se observa un marcado incremento en la producción de esporangios a medida que se incrementa gradualmente la dosis de fungicida, lo cual nos permite predecir pérdida en la eficiencia del fungicida en el manejo del hongo bajo condiciones de laboratorio.

Las consecuentes fallas en el control de la enfermedad pueden ser debidas tal como lo afirma Georgopoulos 1981 (13) a la existencia de cepas resistentes aún antes de usar el fungicida en un área , y que cepas resistentes presentes en la población del patógeno pueden ser incrementadas con el uso de tratamientos con Metalaxyl.

Estas anotaciones nos dan la pauta para alertar a los cultivadores de papa para que hagan un uso racional de este fungicida sistémico en el control de la gota de la papa .

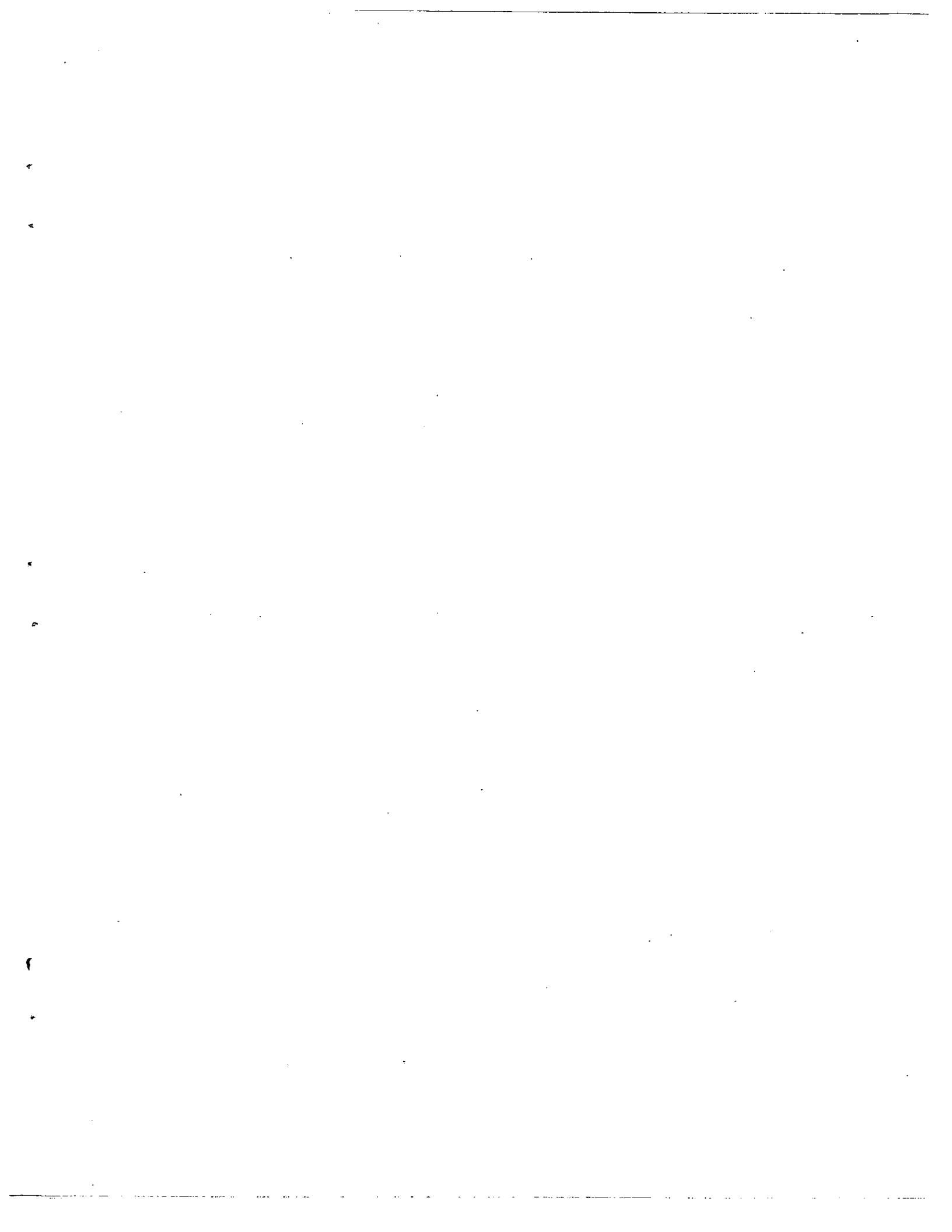
Presly y Maude 1980 (27) reportan crecimiento normal de aislados de Botrytis cinerea en agar que contenía 1.000 Mg/ml de Benomyl, en el presente trabajo se registró crecimiento normal del hongo en aislamientos que contubieron hasta 4.000 Mg/ml del fungicida, por lo tanto si siguiendo las recomendaciones del caso el control con Benomyl no

es efectivo debe considerarse el uso de otros fungicidas apropiados tal como lo recomienda la casa productora.

Los resultados obtenidos con este producto refuerzan las observaciones realizadas por Meyer 1980 (22) quien encontró fallas en el control de las enfermedades causadas por B. cinerea en Bélgica. En nuestro caso, los aislamientos testigo mostraron el mismo rango de variación en apariencia cultural y formación de conidios y esclerocios que los aislamientos de prueba.

El comportamiento de los aislamientos de Pyricularia oryzae Cav, frente al fungicida Kasugamicina fué determinado sobre la base del crecimiento micelial, la formación de esporas y el porcentaje de germinación de éstas.

Los resultados obtenidos están plenamente de acuerdo con los resultados obtenidos aquí en Colombia por Gálvez y Castaño (12) quienes en 1974 ya reportan pérdidas de la eficiencia de este químico en el control de la enfermedad.



trol de su enfermedad específica, por lo tanto se recomienda a los cultivadores un uso racional de estos químicos.

5. Se ve la necesidad inmediata de desarrollar estrategias de prueba tendientes a conservar o mejorar la eficacia de los productos químicos en el control de las enfermedades que afectan tanto la calidad como productividad de nuestras cosechas.
6. Las pruebas de laboratorio contribuyen a la detección temprana de estos problemas antes de que se presenten en el campo y dan la oportunidad de predecir candidatos exitosos en el control de enfermedades para evitar el desarrollo de epidemias futuras.

7. RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de Fitopatología del Centro Regional de Investigaciones "Tibaitatá" del Instituto Colombiano Agropecuario ICA; el objetivo fundamental fué analizar y determinar la acción "in vitro" de tres fungicidas sistémicos específicos en el control de hongos causantes de enfermedades importantes en productos básicos de la economía nacional.

El incremento en el número de productos fungitóxicos hace más evidente la necesidad de métodos rápidos, simples y precisos de evaluación de la interacción hongo-producto químico y hongo-producto químico-hospedero; por esta razón las pruebas "in vitro" que brindan una información confiable respecto a la fungitoxicidad del producto químico contra patógenos específicos se usaron como consideración preliminar.

Los resultados indican que el producto químico Metalaxyl no está ejerciendo control en el desarrollo del hongo en los ensayos de laboratorio realizados con cepas de Phytophthora infestans provenientes de "Tibaitatá" y de "La Selva".

El hongo Botrytis cinerea creció y esporuló bien en todos los tratamientos llevados a cabo "in vitro" con el producto químico Benomyl.

Las experiencias realizadas con el antibiótico Kasugamicina nos revelan pérdida de eficiencia de este producto en el control de la actividad fungica de Pyricularia oryzae causante de grandes pérdidas en los cultivos de arroz.

Estas pruebas "in vitro" nos permiten identificar los productos más promisorios, en el control de las enfermedades, que luego serán probados "in vivo" en el campo con buenas perspectivas de éxito en la producción de las cosechas.

8. SUMMARY

This research was carried out in the laboratory of phytopathology of the Centro Regional de Investigaciones "Tibaitatá" of the Instituto Colombiano Agropecuario ICA. The main purpose of this work was to determine and analyze the "in vitro" action of three specific systemic fungicides for the control of important diseases in basic crops that are important in the colombian economy.

Quick, accurate and simple methods are needed to determine both the interaction between the fungus and the chemical agent and fungus-chemical agent-host, since the number of anti-fungal substances available is increasing rapidly. For this reason the "in vitro" tests that show a reliable data about the anti-fungal toxicity of the chemical agent were used as preliminary consideration.

The results obtained indicate that the chemical "Metalaxyl" does not have any action upon the fungus Phytophthora infestans. Some of the strains came from the experimental station of "La Selva" and another ones came from "Tibaitatá".

The fungus Botrytis cinerea grew and produced spores in all the trials carried out "in vitro" using the anti-fungal Benomyl.

The test carried out with the antibiotic Kasugamicina showed loss of anti-fungal effectivity against Pyricularia oryzae which causes great losses in the rice crop.

This "in vitro" test will allow the identification of the most effective products which will be tryed them " in vivo" in the field with promissing succes for the control of fungal diseases.

BIBLIOGRAFIA

1. ACHICANOY, H. Evaluación "in vitro" de fungicidas para el control de Crinpellis pernicioso (Stahel) Singer y Moniliophthora roreri (Cif & Par) Evans et al. Bogotá, UNC-ICA, 1981. 102 p. (Tesis Mag. Sci).
2. BURITICA, P. Control de enfermedades con fungicidas en 1978. ASCOLFI Informa. (Colombia) v. 3, no. 6, p. 4-6. 1977.
3. CHAKRABARTI, N. K.; WILCOXSON, R. D. Effects of light on sporulation by Pyricularia oryzae. Phytopathology (Estados Unidos) v. 60 no. 1, p. 171. 1970.
4. CHASTAGNER, G. A.; OGAWA, J. M. DCNA- Benomyl; multiple tolerance, in strains of Botrytis cinerea. Phytopathology (Estados Unidos) v. 69 no. 7, p. 699-702. 1979.
5. CLARK, C. A.; LORBEER, J. W. Comparative nutrient dependency of Botrytis squamosa and B. cinerea for germination of conidia and pathogenicity on onion leaves. Phytopathology (Estados Unidos) . v. 67 p. 212-218. 1977.
6. COHEN, Y.; REUVENI, M.; EYAL, H. The system antifungal activity of Ridomil against Phytophthora infestans on tomato plants. Phytopathology (Estados Unidos) v. 69 no. 6, Bogotá (Colombia) p. 645 - 649. 1979.
7. CIBA - GEIGY COLOMBIANA. DIVISION AGROQUIMICA BOGOTA (COLOMBIA) . Novedoso fungicida para el control de los mildos vellosos en los cultivos de papa y tomate; Ridomil. Bogotá, Ciba-Geigy, 1980. 13 p. (Mimeografiado) .
8. DAVIDSE, L. C. Ocurrence of metalaxyl- resistant strains of Phytophthora infestans in dutch potato yields. Wageningen. 1981. p. 1-9. (Mimeografiado) .

9. DELP, C. J. Resistance to plant disease control agents; how to cope with it. En: International Congress of Plant Protection, 9 th. Washington, 10 August, 1979. Eilmington, Delaware, Du Pont de Nemours, 1979. 11 p. (mimeografiado).
10. DU PONT DE COLOMBIA, BOGOTA (COLOMBIA). Benlate. Bogotá, DU-PONT, 1980. 6 p. (Plegable Divulgativo).
11. EDGINGTON, L. V.; MARTIN, R. A.; BRUIN, C.; PARSONS, I. M. Systemic fungicides: a perspective after 10 years. Plant Disease. (Estados Unidos) v. 64 no. 1, p. 19 - 23. 1980.
12. GALVEZ, G. E.; CASTAÑO, J. Aplicación de productos quimio-terapéuticos al suelo para el control de Pyricularia oryzae en arroz. Fitopatología (Colombia) v. 9 no. 1, p. 18 - 23 . 1974.
13. GEORGOPOULUS, S. G.; GRIGORIU, A. C. Metalaxyl resistant strain of Pseudoperonospora cubensis in cucumber green houses of southern Greece. Plant Disease (Estados Unidos). v. 65 p. 729 - 731. 1981.
14. HALL, R. Fungitoxicants and fungal taxonomy. The Botanical Review (Estados Unidos) v. 45 no. 1, p. 1 - 14. 1979.
15. HANSEN, H. N. ; SMITH, R. E. The mechanism of variation in imperfect fungi Botrytis cinerea . Phytopathology (Estados Unidos) v. 22 no. 12, p. 953. 1932.
16. HOOKER, W. J. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa, 1980. p. 56 - 60, Lima.
17. HWANG, B. K.; CHUNG, M. S. Acquired tolerance to Blasticidin S in Pyricularia oryzae . Phytopathology (Estados Unidos) v. 67 no. 3, p. 421 - 424. 1977

18. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO BOGOTA (COLOMBIA).
Floricultura. 1974. p. 147 - 149 (mimeografiado).
19. LAEMMLEN, F. Botrytis diseases; recognition and control.
Michigan, State University, Cooperative Extension Service.
Extension Bulletin no. E-1278. 1980. 2p.
20. MARAITE, H.; GILLES, G.; MEUNIER, S.; WEYNS, J.; BAL, E.
Resistance of Botrytis cinerea Pers. to dicarboximide fungicides
in strawberry fields. Parasitica (Bélgica) v. 36 no. 3,
p. 90 - 101. 1980.
21. MARATIE, H.; S. MEUNIER, POURTOIS, A.; MEYER, J. A.
Emergence in vitro and fitness of strains of Botrytis cinerea
resistant to dicarboximide fungicides. Med. Fac. Landbouww.
Rijksuniv Gent (Bélgica) v. 45 no. 2, p. 159 - 167. 1980.
22. MEYER, J.; POURTOIS, A.; LUMANDE, K.; MARAITE, H.
Tolerance to Benomil in Botrytis cinerea and Fusarium
oxysporum. Netherlands Journal of Plant Pathology. v. 83
supl. 1, p. 215 - 227. 1980.
23. NAVARRO, R.; PUERTA, O. D.; PEREZ, O. Resistencia de
Phytophthora infestans al fungicida sistémico Metalaxil .AS-
COLFI Informa (Colombia) v. 7 no. 1, p. 2. 1981.
24. NIELSEN, L. W. Control of sweet potato fusarium wilt with
Benomyl and Thiabendazole. Plant Disease Reporter (Esta-
dos Unidos) v. 8 no. 1, p. 1 - 4 . 1977.
25. OGAWA, J. M.; MANJI, B. T.; CHASTAGNER, G. A. Field
problems due to chemical tolerance of plant pathogens.
Proceedings of the American Phytopathological Society (Esta-
dos Unidos) v.3, p. 47 - 53. 1976.

26. POURTOIS, A.; MARAITE, H.; MEYER, J.A. Distribution de la tolerance au Benomil dans des populations de Botrytis cinerea Pers. Annales de Phytopathologie (Estados Unidos) v. 8 no. 1, p. 1 - 8 . 1976.
27. PRESLY, A. M.; MAUDE, R. B. The effect of seed treatment with benzimidazole-based fungicides on infection of the foliage of outwintered salad onions by Botrytis cinerea . Anns of Applied Biology (Estados Unidos) v. 94 p. 185 - 196. 1980.
28. SHARVELLE, E. G. The nature and uses of modern fungicides. Minneapolis, Burgess, 1961. 308. p.
29. SIERRA, J. Naturaleza de la resistencia de razas de hongos a fungicidas de acción específica y sistemas de prevención. Bogotá, Du Pont de Colombia, 1979. 18 p. (mimeografiado).
30. SKOLNIK, M. Techniques involved in green house evaluation of deciduous tree fruit fungicides. Annual Review of Phytopathology (Estados Unidos) v. 16 p. 103 - 129 . 1978.
31. TAGA, M. ; NAKAGAWA, H.; TSUDA, M.; UHEYAMA, A. Identification of three different loci controlling Kasugamicyn resistance in Pyricularia oryzae . Phytopatology (Estados Unidos) v. 69 no. 5, p. 453 - 466. 1979.
32. TAGA, M. ; NAKAGAWA, H.; TSUDA, M.; UHEYAMA, A. Ascospore analysis of Kasugamicyn resistance in the perfect stage o Pyricularia oryzae : Phytopatology (Estados Unidos) v. 68 no. 5, p. 815 - 817. 1978.
33. TUIITE, J. Plant pathological methods. Estados Unidos, Burgess, 1969. 239 p.

34. WILD, B. L.; RIPPON, L. E. Response of Penicillium digitatum strains to Benomyl, Thiabendazole, and Sodium O-Phenilphosphate. *Phytopathology* (Estados Unidos) v. 65, no. 10, p. 1176-1177. 1975.
35. VILLARRAGA, L. A. Principales enfermedades en el cultivo del arroz: sintomatología y control. En: Instituto Colombiano Agropecuario. Programa de Arroz. Bogotá (Colombia). El cultivo del arroz. Villavicencio, ICA, 1979. p. 119-129. (Compendio no. 29).
36. YOSHII, K. Aparición de resistencia de Sphaerotheca pannosa a Benomyl y su control con Pyrazophos. *Noticias Fitopatológicas* (Colombia) v. 4 no. 1, p. 89 - 96. 1975.