

## EFECTO *IN VITRO* DEL FUNGICIDA IPRODIONE SOBRE *ALTERNARIA* SPP. Y PROSPECCIÓN PARA SU INCLUSIÓN EN ESTRATEGIAS DE MANEJO EN PAPA, TOMATE, AJO Y CEBOLLA

Berta Lina Muiño García,<sup>1</sup> Julia Almándoiz Parrado<sup>1</sup> y Esther L. Martín Triane<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.<sup>a</sup> B y 5.<sup>a</sup> F, Playa, Ciudad de La Habana, C.P. 11600, bertam@inisav.cu

<sup>2</sup> Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera Maleza Km 2½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba

### RESUMEN

Se comprobó la sensibilidad al iprodione de *Alternaria solani* (Ell and Mart) J. and Gr. en dos aislamientos salvajes obtenidos de hojas de papa y tomate con síntomas de la enfermedad, y dos aislamientos de *A. porri* (Ell) Nierg de ajo y cebolla. Se utilizó el método del crecimiento radial de la colonia, ajustado al medio de cultivo agar-jugo de tomate con la adición del fungicida a concentraciones desde 0,1 hasta 100 mg i.a./L. La  $DL_{50}$  y  $DL_{95}$  para *A. solani* de papa resultó de 0,61 y 3,64 mg i.a./L, y de tomate 0,61 y 3,68 mg i.a./L, respectivamente. Para *A. porri* de ajo los valores de 0,61 y 3,68, mientras que para el aislado de cebolla de 0,48 y 3,12 mg i.a./L. En ensayo de campo se evaluó el comportamiento de la enfermedad respecto a tres estrategias de control químico que incluyeron al iprodione solo, en alternancia con mancozeb, control con ditiocarbamatos y un testigo sin tratamientos, en un diseño completamente aleatorizado. En muestreos de las lesiones aparecidas tras los tratamientos se obtuvieron 258 aislamientos y se les determinó la sensibilidad al iprodione. El nivel de control más alto se observó en la variante de aplicaciones con iprodione, también combinado con mancozeb, las que demostraron diferencias significativas en relación con los tratamientos de ditiocarbamatos y el testigo, con promedios de 20 y 25% de índice de ataque en relación con el 55 y 70%, respectivamente, al final del ciclo del cultivo. Todos los aislamientos fueron sensibles al iprodione, aunque se recomienda la combinación iprodione/mancozeb para evitar desarrollo de resistencia.

Palabras claves: *Alternaria* spp., iprodione, control químico

### ABSTRACT

The sensibility to iprodione of *Alternaria solani* (Ell and Mart) J. and Gr. on two wild isolates obtained from potato and tomato leaves with the diseases symptoms, and two of *A. porri* (Ell) Nierg from onion and garlic, by radial growth of colony test with tomato juice-agar culture medium, with the addition of the fungicide in concentrations from 0.1 to 100 mg a.i./L. The  $LD_{50}$  and  $LD_{95}$  for *A. solani* of potato were 0.61 and 3.64 mg a.i./L, and from tomatoes were 0.61 and 3.68 mg a.i./L, respectively. The values for *A. porri* in garlic were 0.61 and 3.68 mg a.i./L, and for onion were 0.48 and 3.12 mg a.i./L. The behaviour of diseases was evaluated in field conditions, with three chemical strategies of control that included iprodione alone, iprodione alternated with mancozeb, ditiocarbamates and a control without treatment, in a completely randomized design. Sensibility to iprodione was tested on 258 isolates took up from lesions appeared after each treatment. Higher control level was observed in variant of iprodione and when it was combined with mancozeb, which showed significant differences in relation with ditiocarbamates treatments and with the control, with average of 20 and 25% of attack index respect to 55 and 70%, respectively, at the end of cultivation cycle. All isolates were sensible to iprodione, thought it is recommended iprodione/mancozeb combination in order to avoid resistance development.

Key words: *Alternaria* spp., iprodione, chemical control

### INTRODUCCIÓN

La resistencia a los fungicidas y su manejo es de una gran importancia a todo lo concerniente con la protección de los cultivos. Sin un manejo efectivo eficiente la resistencia se desarrolla rápidamente.

El tizón temprano provocado por *Alternaria solani* en los cultivos de papa y tomate y la mancha púrpura causada por *A. porri* en ajo y cebolla representan un

serio problema para estos cultivos desde el punto de vista económico. Por el corto ciclo de vida de estos patógenos, su capacidad de reproducción y de dispersión, se requiere necesariamente para su control de tratamientos con fungicidas químicos eficientes, especialmente en los períodos del cultivo en los cuales mayormente inciden estas patologías.

El iprodione, fungicida monositio del grupo de las dicarboximidias, se ha utilizado extensivamente en el campo a partir de su introducción en el mercado en 1974 [Lacroix *et al.*, 1974]. Su espectro de acción, al igual que el resto de los representantes del grupo, es amplio, con una actividad esencialmente protectora contra representantes de diferentes géneros de hongos tales como *Botrytis*, *Sclerotinia*, *Monilinia*, *Alternaria*, *Sclerotium* y *Phoma* [Pommer y Lorenz, 1995].

Las dicarboximidias poseen una resistencia cruzada general con los hidrocarburos aromáticos. Sus efectos más importantes sobre el metabolismo de las células fúngicas consisten en que interfieren en la síntesis de DNA que involucra la división celular, la síntesis de proteínas y RNA relacionadas con la síntesis de la pared celular, así como pueden también interferir en el metabolismo de los esteroides y lípidos [Pommer y Lorenz, 1995]. Pertenecen al código E3:MAP/histidina e-kinase en la transducción de señales osmóticas os-1, Daf1, presentan riesgo de resistencia de medio a alto y resistencia cruzada entre todos los miembros del grupo [FRAC, 2010].

Debido a su acción selectiva, en 1979 se comenzaron a detectar casos de resistencia de *Botrytis cinerea* en condiciones de campo en viñedos en Francia, Alemania y Suiza. En España, por el contrario, estos compuestos se emplean preferentemente en hortalizas, donde *B. cinerea* empezó a mostrar síntomas de posible resistencia en la década de los ochenta [Navarro, 1994]. También se ha informado resistencia de *Fusarium nivales* [Chastagner y Vassey, 1982], *Sclerotium cepivorum* [Littley y Rahe, 1984] y *Alternaria alternata* [McPhee, 1980].

En Cuba el iprodione fue recomendado fundamentalmente para el control de alternariosis [Vela, 1985] con resultados de efectividad satisfactorios, por lo que el objetivo del presente trabajo consistió en estudiar y estandarizar un método de laboratorio para detectar el posible desarrollo de resistencia en el campo, y realizar una prospección de empleo del iprodione en estrategias de control de *Alternaria* spp. en los cultivos de papa, tomate, ajo y cebolla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se aislaron dos cepas de *A. solani* de plantas de papa y tomate nunca tratadas con fungicidas y afectadas por la enfermedad. También de ajo y cebolla se obtuvieron

dos aislamientos de *A. porri*, lo que representa un total de cuatro cepas salvajes para el estudio, las cuales se conservaron en el laboratorio en medio de cultivo tomate-agar.

En los ensayos se utilizó el método del crecimiento radial de la colonia [FAO, 1982] ajustado para medio de cultivo tomate-agar corregido, con concentraciones de 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10, y 100 mg i.a./L de iprodione, además de un testigo sin añadir fungicida. El medio de agar preparado se extendió en placas de Petri de 9 cm de diámetro a razón de tres placas por cada concentración y aislamiento.

La siembra de los patógenos se realizó en círculos de inóculo de 0,5 cm de diámetro extraídos de las colonias crecidas durante 10 días. La incubación se realizó a 28°C y la evaluación a los cinco y siete días de sembradas, mediante la medición del diámetro de las colonias. A este control se le sustrajo el tamaño del inóculo inicial para obtener el crecimiento exacto de la colonia. Se calculó el porcentaje de mortalidad por la fórmula de Abbott [citada por Dagnelie, 1984], los valores se transformaron a unidad de Probit [Bliss, 1934] y los datos de concentración a logaritmo de la concentración. Se ajustó una ecuación de regresión, y a partir de la línea de regresión se determinó la DL<sub>50</sub> y DL<sub>95</sub>. Todo este procedimiento se realizó mediante un programa computarizado.

En condiciones de campo se desarrolló un ensayo en los cultivos de papa, tomate, ajo y cebolla, donde se evaluó el comportamiento de la enfermedad en dependencia de tres estrategias de control químico, las cuales incluyeron al iprodione en tratamientos exclusivos, alternancia de aplicaciones de iprodione con mancozeb y tratamientos solo con ditiocarbamatos. Todas las aplicaciones se efectuaron a intervalos de siete días y se dejó una variante como testigo sin tratamientos.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, en parcelas de 6,0 m de largo por 4,0 m de ancho, replicadas tres veces. La evolución de la enfermedad se midió por una escala de seis grados. Los tratamientos se iniciaron con los primeros síntomas, y la dosis utilizada de iprodione fue de 1,5 kg i.a./ha, y para los ditiocarbamatos a 2 kg i.a./ha.

Semanalmente se seleccionaron muestras de hojas afectadas con lesiones nuevas, de las que se realizaron aislamientos puros de los patógenos, y se comprobó la sensibilidad al iprodione mediante el procedimiento descrito anteriormente.

Se registraron las condiciones climáticas de temperatura, humedad relativa y lluvias. Las labores agrotécnicas, de fertilización, riego, etc., se realizaron de acuerdo con los instructivos técnicos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Fig. 1 aparecen los porcentajes de mortalidad en las diferentes concentraciones de iprodione para los aislamientos estudiados. Los valores de sensibilidad obtenidos son muy similares para los aislamientos de las dos especies. En la concentración de 5 mg i.a./L y en las

superiores probadas en el ensayo, la mortalidad del hongo fue total, es decir, que para este caso se demuestra que el factor hospedante no ejerce influencia en la sensibilidad del patógeno al fungicida.

Los valores de las dosis letales 50 y 95 (Tabla 1) para el aislado de *A. solani* de papa son de 0,62 y 3,64 mg i.a./L; y para el de tomate de 0,61 y 3,65. Para *A. porri* de ajo, 0,65 y 3,68, y para el aislamiento de cebolla 0,48 y 3,12 mg i.a./L, respectivamente. Los valores del coeficiente de determinación resultaron altamente significativos, lo que indica la efectividad y confiabilidad del método utilizado.

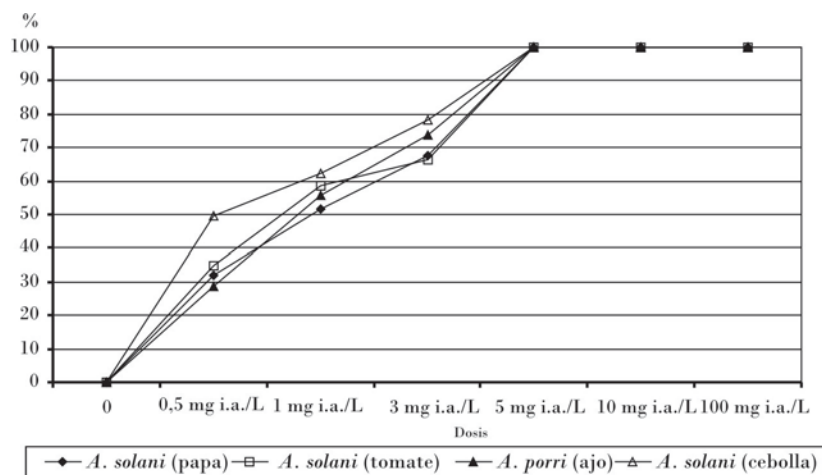


Figura 1. Sensibilidad *in vitro* de *A. porri* y *A. solani* al iprodione.

Tabla 1. Valores de DL<sub>50</sub> y DL<sub>95</sub> del iprodione sobre *A. solani* y *A. porri*

Aislamiento	Ecuación de regresión	R <sup>2</sup>	DL <sub>50</sub> (mg i.a./L)	DL <sub>95</sub> (mg i.a./L)
<i>A. solani</i> (papa)	Y = 5,091 + 2,187X	0,99	0,61	3,65
<i>A. solani</i> (tomate)	Y = 4,675 + 1,604X	0,91	0,62	3,64
<i>A. porri</i> (ajo)	Y = 4,820 + 2,078X	0,98	0,65	3,68
<i>A. porri</i> (cebolla)	Y = 5,262 + 1,385X	0,84	0,48	3,12

Los resultados para aislamientos salvajes en el presente trabajo concuerdan con los informados internacionalmente, pues una vez establecidas las líneas básicas de sensibilidad mediante los procedimientos estandarizados [Russell, 2004] pueden utilizarse como parámetros comparativos para medir la sensibilidad en poblaciones de campo.

Por otra parte, en condiciones de campo se ha informado al iprodione como efectivo para el caso de *A. mali* en Carolina del Norte; sin embargo, se ha demostra-

do tolerancia en Japón y otros países donde la enfermedad tiene un alto riesgo epidemiológico, por lo que se recomienda la utilización de fungicidas como mancozeb y captan en las estrategias de control [EPPO, 2006]. Zhonghua y Michailides (2004) realizaron estudios de caracterización de aislados de campo resistentes al iprodione con aislados de campo sensibles, así como resistentes obtenidos en condiciones de laboratorio en especies de *Alternaria*, entre estas *tenuissima* y *alternata* en el cultivo de pistacho, en

cuanto a mecanismos de acción, virulencia, entre otros, y demostraron que no existen diferencias entre aisla-

dos resistentes de campo, sensibles de campo y los inducidos en laboratorio.

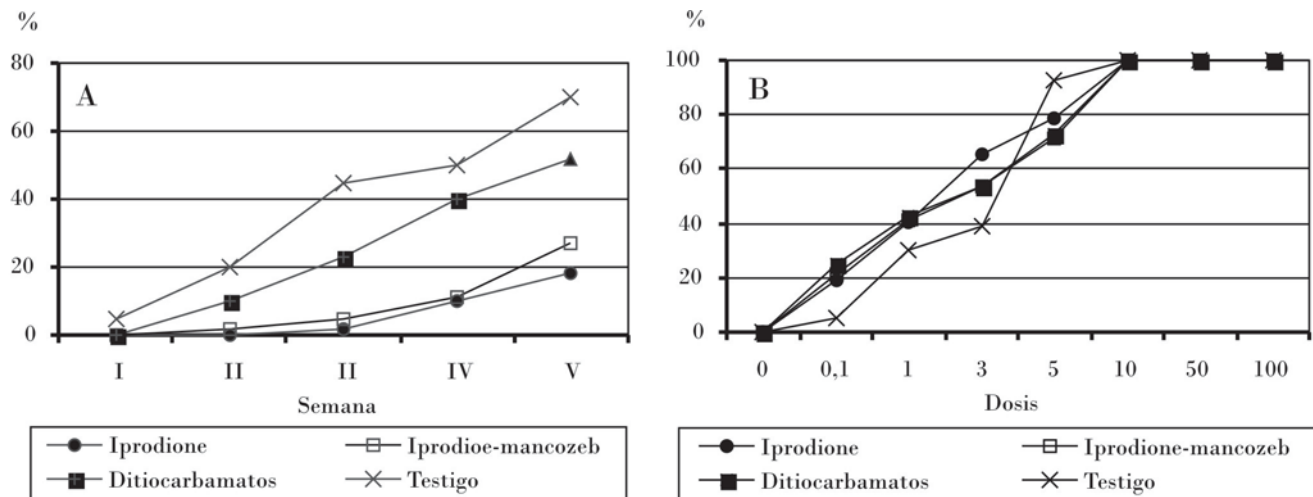


Figura 2. A: Sensibilidad de *A. solani* al iprodione, B: Índice de ataque en las variantes. Papa.

En cuanto a la efectividad en campo (Figs. 2, 3, 4 y 5), la estrategia de tratamientos exclusivos con iprodione mantuvo los niveles más altos de protección en todos los ensayos, con índices de ataque del 20, 20, 20 y 18%, respectivamente, al finalizar el ciclo del cultivo, además de retardar la aparición de la enfermedad respecto al testigo en 14 días para papa, tomate y ajo, y siete para cebolla. En total se realizó un promedio de ocho tratamien-

tos con el fungicida en todo el ciclo del cultivo. Por otra parte, el iprodione alternado con mancozeb proporcionó también un control adecuado de la enfermedad, aunque con índices de ataque ligeramente superiores a la variante anterior (20, 25, 29 y 20%). En ambos casos los resultados fueron muy superiores a los obtenidos en la estrategia, donde se hicieron tratamientos con ditiocarbamatos solamente, así como en el testigo.

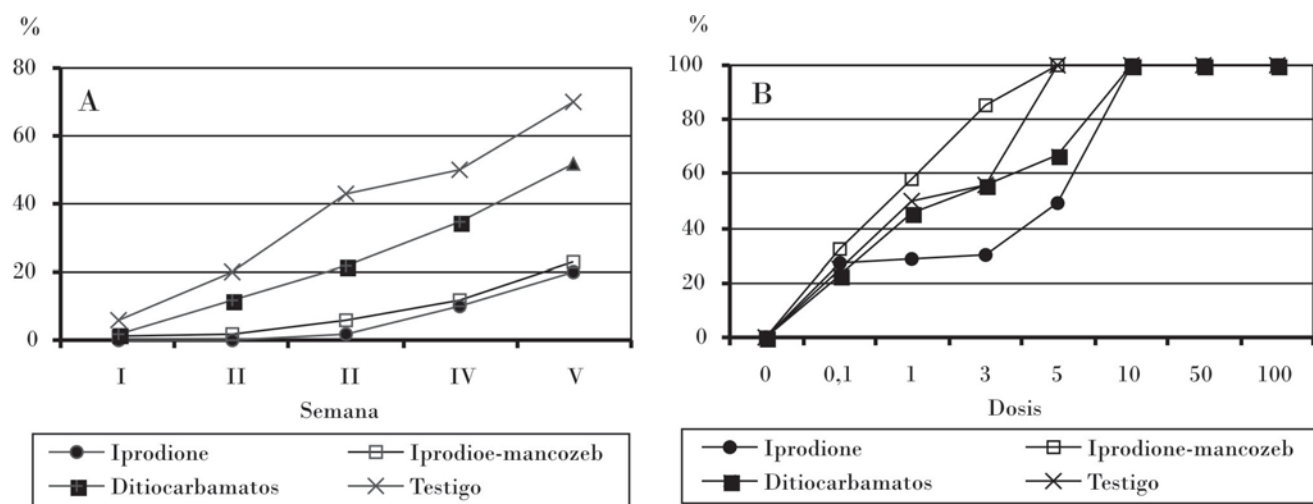


Figura 3. A: Sensibilidad de *A. solani* al iprodione, B: Índice de ataque en las variantes. Tomate.

Efecto in vitro del fungicida iprodione sobre...

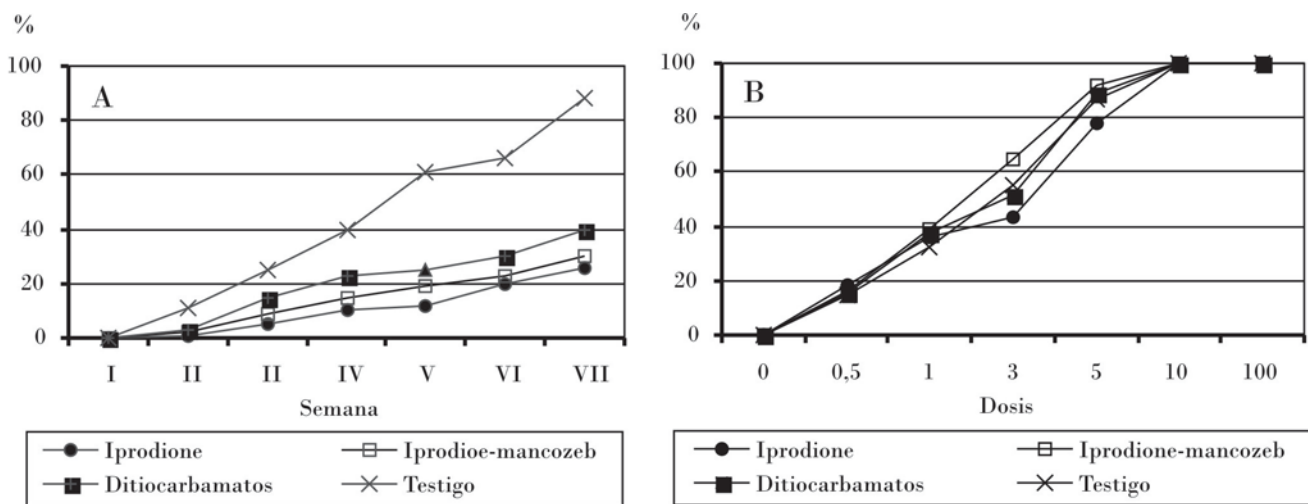


Figura 4. A: Sensibilidad de *A. porri* al iprodione, B: Índice de ataque en las variantes. Cebolla.

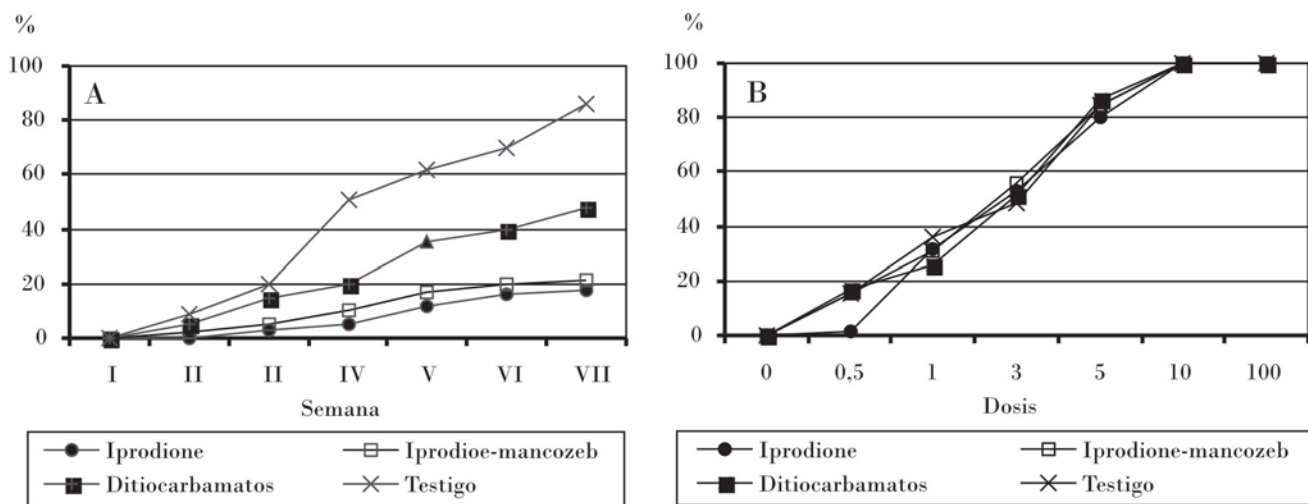


Figura 5. Sensibilidad de *A. porri* al iprodione e índice de ataque en las variantes. Ajo.

Se obtuvo un total de 258 aislamientos, de los cuales 63 fueron en el ensayo de papa, 60 en el de tomate, 60 en cebolla y 75 en ajo. Todos los aislamientos resultaron sensibles al iprodione, incluidos los aislados al finalizar el ciclo del cultivo; sin embargo, es importante señalar que donde se realizaron tratamientos exclusivos con iprodione, en algunos aislamientos se observó un decrecimiento de los valores de la mortalidad a concentraciones intermedias, entre 1 y 10 mg i.a./L; no obstante, a partir de 10 mg i.a./L se observó de manera general una mortalidad total, salvo unos pocos aislamientos procedentes de los tratamientos con iprodione, donde se detectó un crecimiento ligero en 10 mg i.a./L.

En las condiciones del experimento, el número de aplicaciones realizadas en un solo ciclo de cada cultivo no fue suficiente como para seleccionar aislamientos o poblaciones resistentes; no obstante, el iprodione se considera un fungicida monositio [FRAC, 1996, 1997, 1998], por lo que se recomienda en situaciones de resistencia [FRAC, 1998], su empleo en combinación con fungicidas convencionales como el thiram, en dependencia del nivel de severidad para el caso de *Botrytis*.

Según Brent (1995), las razas resistentes de diferentes especies de patógenos como *Botrytis*, *Sclerotinia* y *Monilinia* aparecieron en el campo después de tres años de uso intensivo del producto. Los aislamientos de cam-

po mostraron diferentes grados de resistencia y patogenicidad, y otros factores de adaptabilidad declinaron con el incremento de la resistencia.

Por lo ya expuesto se deriva la importancia de la realización del monitoreo de la sensibilidad de las poblaciones con el objetivo de prevenir problemas de control del fungicida debido al desarrollo de resistencia, y por tanto desbalance poblacional del patógeno en el agroecosistema. Por otra parte, permite la proyección correcta y toma de decisiones en cuanto al uso racional de los fungicidas, lo que implica una reducción importante del impacto al medioambiente.

## CONCLUSIONES

- Los valores de  $DL_{50}$  y  $DL_{95}$  del iprodione sobre *A. solani* (papa) fueron 0,61 y 3,65 mg i.a./L; para *A. solani* (tomate) fueron 0,62 y 3,64; para *A. porri* (ajo) 0,65 y 3,68 y para *A. porri* (cebolla) 0,48 y 3,12 mg i.a./L, respectivamente.
- El método de laboratorio utilizado se considera efectivo y confiable para determinar la sensibilidad de *Alternaria* spp. al iprodione en poblaciones de campo.
- El iprodione en tratamientos exclusivos a dosis de 1,5 kg i.a./ha mantuvo los niveles de control más elevados con índices de ataque del 20, 20, 20 y 18% al finalizar el ciclo del cultivo, para papa, tomate, cebolla y ajo, respectivamente.
- El iprodione, en alternancia con mancozeb, ofreció niveles de control satisfactorios con índices de ataque del 20, 25, 29 y 20% al finalizar el ciclo del cultivo para papa, tomate, cebolla y ajo, respectivamente, la que se considera la más promisoría para evitar el desarrollo de resistencia.

## REFERENCIAS

- Bliss, C. I.: «The Calculation of Dosage Mortality Curve», *Ann of App. Biol.* 22:135-167, EE. UU., 1934.
- Brent, K. J.: *Fungicide Resistance in Crop Pathogens: How Can It Be Managed?*, FRAC Monograph No. 1, Second, revised edition, Published by GCPF, Bélgica, 1995.
- Chastagner, G. A.; W. E. Vassey: «Occurrence of Iprodione-Tolerant Fusarium Nivale Under Field Conditions», *Plant Dis.* 66:112-114, EE. UU., 1982.
- Dagnelie, P.: «Theorell Méthodes Statistiques», *Les Presses Agronomiques de Gemblour* 2:242-250, Francia, 1984.
- EPPO: «Quarantine Pest. *Alternaria mali*», Inglaterra, 2006, [www.eppo.org/QUARANTINE/fungi/Alternaria\\_mali/ALTEMA\\_ds.pdf](http://www.eppo.org/QUARANTINE/fungi/Alternaria_mali/ALTEMA_ds.pdf) (consultado en julio del 2010).
- FAO: «Method for Fungicide Resistance», *Plant Prot. Bull.*, FAO 30 (2):38-69, Italia, 1982.
- FRAC: «Fungicide Resistance Action Committee», Status Report, GCFP, Francia, 1996.
- FRAC: «Fungicide Resistance Action Committee», Status Report, GCFP, Francia, 1997.
- FRAC: «Fungicide Resistance Action Committee», Status Report, GCFP, Francia, 1998.
- FRAC Code List: «Fungicides Sorted by Mode of Action» (including FRAC Code numbering), Francia, 2010.
- Lacroix, L.; C. Bic; L. Burgaud; M. Guillot; R. Leblanc; R. Riottot; M. Sauli: «Etude des propriétés antifongiques d'une nouvelle famille des dérivés de l'hydantoine et en particulier de 26019 R.P.», *Phytiatrie-Phytopharmacie* 23:165-174, Francia, 1974.
- Littley, E. R.; J. E. Rahe: «Specific Tolerance of *Sclerotium cepivorum* to Dicarboximide Fungicides», *Plant Dis.* 68:371-374, EE. UU., 1984.
- McPhee, W. J.: «Some Characteristics of *Alternaria alternata* Strains Resistant to Iprodione», *Plant Dis.* 64:847-849, EE. UU., 1980.
- Navarro, J.: «Métodos de detección de resistencias de las dicarboximidias a *Botrytis cinerea* e interpretación de los distintos tests para establecer los niveles de estas resistencias», *Phytoma* 62:27-29, España, 1994.
- Pommer, E. H.; Gisela Lorenz: «Dicarboximide Fungicides», *Modern Selective Fungicide*. 2<sup>nd</sup> ed., EE. UU., 1995.
- Russell, P. E.: «Sensitivity Baselines in Fungicide Resistance Research and Management», FRAC Monograph No. 3, Inglaterra, 2004.
- Vela, D.: «Aplicación del Rovral 50 PH para el control del hongo *Alternaria* spp. en los cultivos de cebolla, ajo y papa», Informe Técnico, Archivo Laboratorio Toxicología, Inisav, La Habana, 1985.
- Zhonghua, M.; T. J. Michailides: «Characterization of Iprodione-Resistant *Alternaria* Isolates from Pistachio in California», *Pesticide Biochemistry and Physiology* 80(2):75-88, Inglaterra, 2004.