

## EFECTO *IN VITRO* DE SIETE FUNGICIDAS QUÍMICOS SOBRE *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUIL.

Leónides Castellanos González,<sup>1</sup> Berta Lina Muiño García,<sup>2</sup> María E. Lorenzo Nicao,<sup>3</sup> Ana Rodríguez Fernández<sup>3</sup> y Medardo Gómez albernal<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Centro de Estudio para la Transformación Agraria Sostenible, Universidad de Cienfuegos. Carretera a Rodas Km 3, Cuatro Caminos, Cienfuegos, Cuba, lcastellanos@ucf.edu.cu

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.<sup>a</sup> B y 5.<sup>a</sup> F, Playa, La Habana, C.P. 11600

<sup>3</sup> Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera a Palmira Km 4, Cienfuegos, Cuba

### RESUMEN

Se estudió el efecto *in vitro* de siete fungicidas sobre el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* cepa LBb-1. (Bals) Vuil. a concentraciones de los fungicidas de 10, 100, 200, 500, 1000 y 2000 mg · L<sup>-1</sup>. Se evaluó la inhibición del crecimiento de la colonia del hongo, el efecto sobre la capacidad esporulativa y la germinación de los conidios. La DL-50 y la DL-95 del fungicida tebuconazol se estimaron por debajo de 10 mg · L<sup>-1</sup>. La DL-50 para difenoconazol se estimó en 30,45 mg · L<sup>-1</sup>, para mancozeb en 161,49 mg · L<sup>-1</sup>, para azoxystrobin en 1463,11 mg · L<sup>-1</sup> y para folpet en 398,92 mg · L<sup>-1</sup>. Para óxido cuproso y zineb la DL-50 fue > 2000 mg · L<sup>-1</sup>. La DL-95 para difeconazol se estimó en 1019,04 mg · L<sup>-1</sup>, mientras que para el resto de los fungicidas se estimaron por encima de 2000 mg · L<sup>-1</sup>. Tebuconazol se clasificó como tóxico para *Beauveria bassiana* por la escala de la OILB, mientras que el resto se clasificaron como ligeramente tóxicos. Los siete fungicidas estudiados se clasificaron como muy tóxicos para el hongo entomopatógeno de acuerdo con su valor T, y no fueron compatibles con este. No se observó germinación de los conidios de *Beauveria bassiana* a ninguna de las concentraciones ensayadas de tebuconazol, difenoconazol, mancozeb, azoxystrobin y folpet, pero sí frente a zineb y óxido cuproso hasta 1000 mg · L<sup>-1</sup> y 2000 mg · L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Palabras claves: fungicidas, hongos entomopatógenos, toxicidad, *Beauveria bassiana*

### ABSTRACT

The effect of seven fungicides on the entomopathogen fungus *Beauveria bassiana* strain LBb-1. (Bals) Vuil. was studied *in vitro* with fungicides concentrations of 10, 100, 200, 500, 1000 and 2000 mg · L<sup>-1</sup>. The inhibition of fungus colony growth, the effect on spore production capacity and conidia germination were evaluated. DL-50 and the DL-95 of fungicide tebuconazol were considered below 10 mg · L<sup>-1</sup>. DL-50 for difenoconazol was considered in 30.45 mg · L<sup>-1</sup>, for mancozeb it was 161.49 mg · L<sup>-1</sup>, for folpet it was 398.92 mg · L<sup>-1</sup> and for azoxystrobin it was 1463.11 mg · L<sup>-1</sup>. DL-50 for copper oxide and zineb were > 2000 mg · L<sup>-1</sup>. DL-95 for difeconazol was considered as 1019.04 mg · L<sup>-1</sup>, while for the rest of the fungicides it was considered above 2000 mg · L<sup>-1</sup>. Tebuconazol was classified as toxic for *Beauveria bassiana* by the OILB scale, while the rest were classified as lightly toxic. The seven studied fungicides were classified as very toxic for the fungus according to their T value, and they were not compatible with this. Conidia germination of *Beauveria bassiana* were not observed in none of tebuconazol, difenoconazol, mancozeb, azoxystrobin and folpet concentrations assayed, while in front of zineb and copper oxide they germinated up to 1000 mg · L<sup>-1</sup> and 2000 mg · L<sup>-1</sup>, respectively.

Key words: fungicides, entomopathogen fungi, toxicity, *Beauveria bassiana*

### INTRODUCCIÓN

Los bioplaguicidas constituyen un importante medio de control biológico de plagas en la agricultura, con probada efectividad en muchos países [Batista, 1997]. El grupo más importante de hongos entomopatógenos son los deuteromicetos u hongos imperfectos, en los cuales se desconoce la fase sexual. Los géneros más importantes son *Beauveria*, *Verticillium*, *Metarhizium*, *Hirsuthella* y *Paecilomyces* [Fernandez-Larrea, 2001].

El hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. se ha estudiado como agente de control de insectos plaga pertenecientes a diferentes órdenes. En cultivos de la agricultura urbana [Minag, 2007] lo recomendaron para el control de varias especies de crisomélidos que afectan a muchos cultivos hortícolas.

Por otra parte, numerosas enfermedades afectan los cultivos sembrados en canteros en organopónicos y

huertos intensivos [Castellanos *et al.*, 2005], las cuales requieren del empleo de fungicidas químicos para su control, que pueden afectar los hongos entomopatógenos que se aplican para el control de insectos plaga.

Entre los fungicidas que se recomiendan para el control de enfermedades fúngicas en la agricultura urbana se encuentran difenoconazol, oxiclóruo de cobre, mancozeb, zineb, azoxystrobin, matalaxyl y azufre [Minag, 2007]. Estos están autorizados en muchos cultivos en Cuba donde se realizan tratamientos con hongos entomopatógenos, entre ellos con *B. bassiana* [CNSV, 2005].

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de siete fungicidas que se recomiendan para el control de enfermedades en diferentes cultivos en Cuba sobre el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron siete fungicidas de diferente grupo químico, los cuales se emplean con frecuencia para el control de enfermedades fúngicas en cultivos hortícolas tanto en la agricultura urbana como en áreas rurales, según recomendaciones del Centro Nacional de Sanidad Vegetal [CNSV, 2005].

<i>Fungicida</i>	<i>Grupo químico</i>	<i>Dosis de campo</i> (mg · L <sup>-1</sup> i.a)
Difenoconazol	Triazol	100 mg · L <sup>-1</sup>
Tebuconazol	Triazol	200 mg · L <sup>-1</sup>
Folpet	Ftalimida	1000-1200 mg · L <sup>-1</sup>
Zineb	Ditiocarbamato	2000 mg · L <sup>-1</sup>
Mancozeb	Ditiocarbamato	2000 mg · L <sup>-1</sup>
Azoxystrobin	Estrobirulina	500 mg · L <sup>-1</sup>
Óxido cuproso	Compuesto orgánico (cúprico)	2000 mg · L <sup>-1</sup>

Se empleó para los ensayos al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* cepa LBB-1, obtenido de la colección del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos. Esta cepa se conservó a 9°C en tubos sobre el medio de cultivo agar-Sabouraud-dextrosa.

Las soluciones de los fungicidas se prepararon en agua previamente esterilizada a partir de una solución madre de 5000 mg · L<sup>-1</sup> i.a. de cada producto, de la cual derivaron las diluciones de menor concentración.

Los medios se envasaron en erlermeyers y se esterilizaron en una autoclave por 15 min a 121°C, luego se dejaron enfriar hasta 45°C y se añadieron las cantidades correspondientes de las soluciones de cada

fungicida, hasta obtener el rango de concentraciones de estudio de 10, 100, 200, 500, 1000 y 2000 mg · L<sup>-1</sup>. Posteriormente se extendieron en placas de Petri de 9 cm de diámetro, sobre las que se ubicaron discos de 0,5 cm de diámetro de los cultivos del hongo de cinco días de edad. Se incluyó una variante con medio de cultivo sin adicionar fungicida como testigo, y cada variante se replicó cinco veces. Las placas se incubaron a 27°C en la oscuridad, y la evaluación se realizó a los diez días, la cual consistió en medir el diámetro de la colonia del hongo en milímetros. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento mediante la fórmula de Abbot [Ciba Geygi, 1981].

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{\text{Crecimiento colonia testigo} - \text{crecimiento colonia concentración}}{\text{Crecimiento colonia testigo}} \times 100$$

Se determinaron los valores de DL-50 y DL-95 según la curva dosis del fungicida-porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo a los diez días de iniciado el ensayo, para lo cual se trabajó con un nivel de probabilidad de error del 5%.

Se clasificó la toxicidad del fungicida por los valores de inhibición del crecimiento de la colonia a los diez días a la dosis de campo de cada producto [CNSV, 2005], en una solución final de 400 L · ha<sup>-1</sup>, con la escala de la Organización Internacional de Lucha Biológica (OILB) [Viñuela *et al.*, 1993].

**Inhibición  
del crecimiento (%)**

< 30%  
30-75%  
75-90%  
> 90%

**Clasificación**

Inofensivo  
Ligeramente tóxico  
Moderadamente tóxico  
Tóxico

Para medir el efecto de cada fungicida sobre la capacidad esporulativa (conidiogénesis) se prepararon los medios de forma similar a como se describió anteriormente. La evaluación se inició a partir de los tres días y finalizó a los diez, y se enfatizó en la última evaluación para hacer las comparaciones. El parámetro medido como indicador del efecto fungicida fue la intensidad de esporulación, para lo cual se tomó un disco de 0,5 cm de diámetro del hongo por placa por día y se colocó en 2 mL de agua destilada estéril con tween al 0,01%. Se agitó reiteradamente la suspensión y más tarde se realizaron los conteos (conidios por centímetro cuadrado) en la cámara de Neubauer.

La compatibilidad de cada fungicida con el hongo entomopatógeno se calculó según el valor T propuesto por Alves *et al.* (1998), y se emplearon los dos indicadores evaluados anteriormente: porcentaje de inhibición del crecimiento y el efecto sobre la capacidad esporulativa a través de la fórmula

$$T = 20 [CV] + 80 [ESP] / 100$$

donde:

T: Valor corregido para la clasificación del producto

CV: Porcentaje de crecimiento vegetativo con relación al testigo

ESP: Porcentaje de esporulación con relación al testigo.

Los valores de T se clasificaron según la escala establecida como:

0 a 30	Muy tóxico
31 a 45	Tóxico
46 a 60	Moderadamente tóxico
> 60	Compatible

Se determinó el efecto de cada fungicida sobre la germinación del hongo entomopatógeno, para lo cual se emplearon portaobjetos, sobre los que se colocaron 0,5 mL del medio de cultivo envenenado con las diferentes concentraciones de cada fungicida; luego se le añadió 0,1 mL de una suspensión conidial de  $10^8$  conidios/mL del hongo y se incubaron a 27°C en la oscuri-

dad. Se utilizaron cinco portaobjetos (réplicas) por variante, los cuales se mantuvieron en cámaras húmedas dentro de placas de Petri. El porcentaje de germinación se determinó a las 16 y 24 h por medio de un microscopio óptico. Se contaron 100 conidios por cada réplica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tebuconazol presentó el 100% de inhibición del crecimiento micelial de *Beauveria bassiana* a todas las concentraciones del fungicida en estudio, con diferencia estadística siempre con el resto, excepto a la concentración de 2000 mg · L<sup>-1</sup>, en que difenoconazol también manifestó el 100% de inhibición (Tabla 1). Le siguió en segundo orden difenoconazol, que presentó siempre diferencia estadística con el resto de los fungicidas, excepto con mancozeb a 10 mg · L<sup>-1</sup>, concentración a la que ambos fungicidas presentaron similares niveles de inhibición del crecimiento del hongo.

Zineb resultó ser el fungicida de menor efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de *Beauveria bassiana*, y manifestó siempre diferencia estadística con el resto de los fungicidas. Mancozeb y folpet resultaron intermedios, seguidos de azoxystrobin y óxido cuproso, al manifestar niveles de inhibición del crecimiento micelial que a veces diferían estadísticamente y otras no.

La DL-50 y la DL-95 del fungicida tebuconazol se ubicaron fuera del rango de concentraciones ensayadas, por ser muy inferiores a 10 mg · L<sup>-1</sup>. La DL-50 para difenoconazol se estimó en 30,45 mg · L<sup>-1</sup>, para mancozeb en 161,49 mg · L<sup>-1</sup>, para azoxystrobin en 1463,11 mg · L<sup>-1</sup> y para folpet en 398,92 mg · L<sup>-1</sup>. Para óxido cuproso y zineb la DL-50 fue > 2000 mg · L<sup>-1</sup>. La DL-95 para difenoconazol se estimó en 1019,04 mg · L<sup>-1</sup>, mientras que para el resto con excepción, del tebuconazol, al cual se había hecho referencia ya, se estimaron por encima de 2000 mg · L<sup>-1</sup>, lo que evidencia que estos fungicidas triazólicos afectan mucho más que el resto el crecimiento micelial de *B. bassiana* (Tabla 2).

**Tabla 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento *in vitro* de *Beauveria bassiana* frente los siete fungicidas en estudio**

Fungicidas	Concentraciones ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )					
	10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	1000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	2000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
Difenoconazol	42,4 b	63,6 b	69,7 b	78,8 b	98,8 b	100 a
Tebuconazol	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Azoxystrobin	27,5 d	28,5 e	40,0 c	48,5 c	45,7 e	54,2 d
Óxido cuproso	33,9 c	36,2 d	36,2 d	44,5 d	44,6 e	47,5 e
Folpet	21,4 e	40,5 c	40,0 c	44,2 d	47,6 d	57,1 c
Zineb	18,8 f	25,8 f	26,7 e	33,3 e	35,3 f	36,9 f
Mancozeb	40,9 b	41,1 c	41,1 c	48,15 c	64,7 c	73,5 b
E. típico*	0,036	0,04	0,09	0,05	0,039	0,03
CV (%)	1,39	2,05	3,29	1,91	1,91	0,92

Letras desiguales difieren según el test de rangos múltiples de Duncan para  $\bar{p} ? 0,05$ .

**Tabla 2. Valores de DL-50 y DL-95 de los fungicidas para el hongo entomopatógeno según valores de inhibición del crecimiento micelial a los diez días**

Fungicidas	Ecuación de regresión	Coefficiente de determinación	DL-50 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	DL-95 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )
Difenoconazol	$Y = 1,0789X + 3,3992$	0,80	30,45	1019,04
Tebuconazol	–	–	$\ll 10$	$< 10$
Azoxystrobin	$Y = 0,3111X + 4,0153$	0,7933	1463,11	$\gg 2000$
Folpet	$Y = 0,4221X + 3,9022$	0,7515	398,92	$\gg 2000$
Zineb	$Y = 0,2507X + 3,8526$	0,9777	$> 2000$	$\gg 2000$
Mancozeb	$Y = 0,3695X + 4,1841$	0,7053	161,49	$> 2000$
Óxido cuproso	$Y = 0,1635X + 4,3673$	0,8321	$> 2000$	$\gg 2000$

Todos los fungicidas químicos estudiados manifestaron algún nivel de toxicidad con respecto a la inhibición del crecimiento micelial sobre *Beauveria bassiana* cepa LBb-1, aunque tebuconazol fue el más destacado en este sentido, por lo que se clasificó como tóxico por la escala de la OILB, mientras que el resto se ubicó en la clasificación de ligeramente tóxico. De acuerdo con

esta clasificación, aunque seis fungicidas se ubicaron en la categoría como ligeramente tóxicos, el de menor toxicidad, entre ellos, sería zineb, que solo manifestó el 36,9% de inhibición del crecimiento micelial a la dosis de campo ( $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), y cuya DL-50 estuvo por encima de ese valor, lo cual ocurrió también para el óxido cuproso (Tabla 3).

**Tabla 3. Clasificación de la toxicidad de los fungicidas sobre *Beauveria bassiana* cepa LBb-1 a las dosis de campo**

Fungicidas	Toxicidad (OILB)	
	Inhibición del crecimiento (%)	Clasificación
Difenoconazol	63,6	Ligeramente tóxico
Tebuconazol	100,0	Tóxico
Azoxystrobin	48,5	Ligeramente tóxico
Folpet	47,6	Ligeramente tóxico
Zineb	36,9	Ligeramente tóxico
Mancozeb	73,5	Ligeramente tóxico
Óxido cuproso	47,5	Ligeramente tóxico

Los fungicidas triazólicos difenoconazol y tebuconazol inhibieron totalmente la producción de las conidios de *Beauveria bassiana* a todas las concentraciones en estudio, lo que ocurrió de forma similar para mancozeb, excepto a  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , donde ocurrió la conidiogénesis, pero con una disminución sensible en la producción de

esporas con respecto al testigo (Tabla 4). El hongo entomopatógeno esporuló a todas las concentraciones ensayadas de óxido cuproso y de azoxystrobin; sin embargo, la conidiogénesis no se produjo en el medio envenenado con folpet a 500, 1000 y 2000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , y con zineb a 2000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

Tabla 4. Esporulación de *Beauveria bassiana* a diferentes concentraciones de los fungicidas en estudio a los diez días

Fungicidas	Concentraciones ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )						
	Testigo	$10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$
Difenoconazol	$2,2 \times 10^6$	0	0	0	0	0	0
Tebuconazol	$2,2 \times 10^6$	0	0	0	0	0	0
Azoxystrobin	$9,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^8$	$2,7 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$6,3 \times 10^6$	$3,1 \times 10^6$
Óxido cuproso	$1,7 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$6,2 \times 10^7$	$3,4 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$	$3,8 \times 10^7$
Folpet	$1,6 \times 10^8$	$4,2 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	0	0	0
Zineb	$1,78 \times 10^8$	$5,7 \times 10^7$	$3,2 \times 10^7$	$8,0 \times 10^7$	$3,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	0
Mancozeb	$9,7 \times 10^7$	$1,8 \times 10^6$	0	0	0	0	0

Es de señalar que en los medios de cultivos envenenados con azoxystrobin y óxido cuproso se produjo una estimulación de la conidiogénesis de *Beauveria bassiana*, y aunque el hongo siempre esporuló frente a estos fungicidas a partir de  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , se observó una disminución de la producción de conidios en la medida en que aumentó la concentración del producto con respecto a testigo sin envenenar (Tabla 5). Para los fungicidas folpet, mancozeb y zineb, en todos los casos en que se produjo la conidiogénesis se manifestó una reducción notable de la producción de conidios con respecto al testigo.

Es importante señalar que zineb, que manifestó menor efecto sobre el crecimiento micelial del hongo y la DL-50 más alta, no permitió su esporulación a la dosis de campo, mientras que azoxystrobin sí consintió que *Beauveria bassiana* esporulara a una concentración cuatro veces por encima de su dosis de empleo en campo ( $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), lo cual sería interesante comprobar bajo estas condiciones. Para el caso de óxido cuproso se produjo la conidiogénesis del hongo a la dosis de campo, aunque solo con una de la producción de conidios que representó el 22% de la que se observó en el testigo sin envenenar.

Tabla 5. Pcentajes de la esporulación de *Beauveria bassiana* a diferentes concentraciones de los fungicidas con respecto al testigo a los diez días

Fungicidas	Concentraciones ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )					
	$10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$
Difenoconazol	0	0	0	0	0	0
Tebuconazol	0	0	0	0	0	0
Azoxystrobin	122,2	30,0	28,88	23,33	7,0	3,44
Óxido cuproso	111	58,8	36,4	20,0	16,47	22,3
Folpet	26,25	10,0	8,12	0	0	0
Zineb	32,02	17,9	44,9	1,68	1,12	0
Mancozeb	1,85	0	0	0	0	0

Los siete fungicidas estudiados se clasificaron como muy tóxicos para *Beauveria bassiana* cepa LBb-1, de acuerdo con su valor T. Óxido cuproso y azoxystrobin

reportaron los valores T más altos, pero no sobrepasaron el valor de 30, por lo se que consideran muy tóxicos (Tabla 6).

**Tabla 6. Clasificación de la toxicidad y la compatibilidad de los fungicidas con *Beauveria bassiana* cepa LBb-1 a las dosis de campo**

Fungicidas	Compatibilidad [Alves et al., 1998]	
	Valor T	Clasificación
Difenoconazol	7,28	Muy tóxico
Tebuconazol	0	Muy tóxico
Azoxystrobin	28,90	Muy tóxico
Folpet	8,58	Muy tóxico
Zineb	12,62	Muy tóxico
Mancozeb	5,3	Muy tóxico
Óxido cuproso	28,38	Muy tóxico

No se observó germinación de los conidios de *Beauveria bassiana* a ninguna de las concentraciones ensayadas de tebuconazol, difenoconazol, mancozeb, azoxystrobin y folpet. Los conidios del hongo solo germinaron frente a zineb hasta 1000 mg · L<sup>-1</sup> (va-

lor inferior a la dosis de campo) y frente a óxido cuproso a todas las concentraciones. Es importante destacar que a la dosis de empleo en el campo del óxido cuproso se observó el 99% de germinación (Tabla 7).

**Tabla 7. Porcentaje de germinación de los conidios de *Beauveria bassiana* a diferentes concentraciones de los fungicidas en estudio a las veinticuatro horas**

Fungicidas	Testigo	Concentraciones (mg · L <sup>-1</sup> )					
		10 mg · L <sup>-1</sup>	100 mg · L <sup>-1</sup>	200 mg · L <sup>-1</sup>	500 mg · L <sup>-1</sup>	1000 mg · L <sup>-1</sup>	2000 mg · L <sup>-1</sup>
Difenoconazol	97,0	0	0	0	0	0	0
Tebuconazol	97,0	0	0	0	0	0	0
Azoxystrobin	100	7,0	0	0	0	0	0
Óxido cuproso	99,2	98,8	97,8	97,8	91,2	99,0	99,0
Folpet	100	7	0	0	0	0	0
Zineb	99,2	100	99,6	98,4	24,8	30,0	0
Mancozeb	100	0	0	0	0	0	0

Los presentes resultados indican que debe tenerse extremo cuidado al aplicar estos fungicidas en áreas sometidas a tratamientos con *Beauveria bassiana*, ya que todos afectaron el creciendo micelial del hongo, la conidiogénesis (aunque azoxystrobin y óxido cuproso lo hicieron en menor medida) y la germinación de los conidios (con excepción del óxido cuproso). Tebuconazol se clasificó como tóxico, y difenoconazol, mancozeb, azoxystrobin, óxido cuproso, zineb y folpet como lige-

ramente tóxicos, según la escala de la OILB [Viñuela *et al.*, 1993], mientras que según el valor T [Alves *et al.*, 1998], todos los fungicidas se clasificaron muy tóxicos, y por lo tanto incompatibles con *B. bassiana*. Resultó de interés la baja afectación de óxido cuproso sobre la germinación de los conidios del hongo, lo cual pudiera dar la posibilidad de aplicar el entomopatógeno después de tratamientos con el fungicida con un riesgo mínimo de afectar la germinación de los conidios, pero

con un riesgo grande de que se afecten las colonizaciones anteriores del entomopatógeno.

No se han encontrado trabajos del efecto de fungicidas sobre *B. bassiana* en Cuba, pero sí en *Lecanicillium lecanii* [Muiño y Larrinaga, 1998] y *Trichoderma* spp. [Muiño *et al.*, 2001]. Sobre este último los fungicidas menos tóxicos resultaron oxiclóruo de cobre y zineb, tendencia observada también en la presente investigación con zineb y óxido cuproso. Por otra parte, el herbicida Quizolofop-p etilo resultó ligeramente tóxico sobre *Beauveria bassiana* cepa LBb-1 y *Lecanicillium lecanii* cepa Y-57, dos hongos entomopatógenos que se emplean en el cultivo de la papa en Cuba, según la escala de la OILB, mientras que según el valor T, este herbicida se clasificó como compatible para *Lecanicillium lecanii* y muy tóxico para *Beauveria bassiana*, lo que da una medida de la alta sensibilidad de este último hongo entomopatógeno a los químicos [Castellanos *et al.*, 2008]. Siete fungicidas evaluados frente a *Beauveria bassiana* resultaron muy tóxicos a este hongo entomopatógeno, mientras que de ellos solo cinco alcanzaron esta categoría frente a *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., lo cual también evidenció mayor efecto de los fungicidas sobre el primero [Loureiro *et al.*, 2002].

Loureiro *et al.* (2002) clasificaron a tebuconazol y mancozeb como muy tóxicos sobre *Beauveria bassiana* por obtenerse con ellos valores de  $T = 0$ , lo que discrepa de los presentes resultados para el último fungicida por el valor alcanzado, pero no por la clasificación obtenida. Óxido cuproso y folpet fueron clasificados también por los mismos autores como muy tóxicos al alcanzar valores T de 10,30 y 27,32, respectivamente, con lo cual coincide la clasificación obtenida en el presente estudio.

Siete fungicidas evaluados por Loureiro *et al.* (2002) frente a *Beauveria bassiana* resultaron muy tóxicos a este hongo entomopatógeno, mientras que de ellos solo cinco alcanzaron esta categoría frente a *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., lo que evidenció mayor efecto de los fungicidas sobre el primero.

Ante la necesidad que se presenta en ocasiones de hacer tratamientos foliares con fungicidas químicos contra las enfermedades en organopónicos y huertos intensivos [Minag, 2002, 2007] y también en muchos cultivos hortícolas en áreas donde se realizan tratamientos con *Beauveria bassiana*, deben tenerse en cuenta los presentes resultados, y evitar los tratamientos con difenoconazol y tebuconazol, que aunque son más efec-

tivos contra los hongos fitopatógenos, tienen mayor nivel de toxicidad sobre este entomopatógeno, a pesar de ser sistémicos, selectivos y aplicarse a bajas dosis, y se debe utilizar azoxystrobin, que fue el de menor efecto negativo, o priorizar los fungicidas de contacto. Entre estos últimos debe priorizarse el empleo de óxido cuproso, sobre todo si es de origen mineral y está autorizado para la producción orgánica, y en segunda instancia a zineb, que evidenció menor inhibición sobre el crecimiento micelial del hongo, la conidiogénesis y la germinación de los conidios que mancozeb y folpet.

## CONCLUSIONES

- Tebuconazol se clasificó como tóxico para *Beauveria bassiana* cepa LBb-1 por la escala de la OILB, mientras que difenoconazol, mancozeb, azoxystrobin, folpet, óxido cuproso y zineb se clasificaron como ligeramente tóxicos.
- Los siete fungicidas estudiados se clasificaron como muy tóxicos para *Beauveria bassiana* cepa LBb-1 de acuerdo con su valor T, y no son compatibles con el hongo entomopatógeno.
- No se observó germinación de los conidios de *Beauveria bassiana* a ninguna de las concentraciones ensayadas de tebuconazol, difenoconazol, mancozeb, azoxystrobin y folpet, pero sí frente a zineb y óxido cuproso hasta  $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente.

## REFERENCIAS

- Alves, S. B.; A. Moino; J. E. M. Almeida: «Produtos fitossanitários e entomopatógenos», *Controle microbiano de insetos*, FEALQ, Piracicaba, Brasil, 1998, pp. 217-238.
- Batista, S.: «Seguridad de los agentes de control microbianos», *O. Biológico* 59(2):79-86, São Paulo, Brasil, 1997.
- Castellanos, L.; R. Mur; J. L. Ayala; C. Ferrer: «Principales enfermedades fúngicas observadas en canteros de organopónicos y huertos intensivos y su manejo en Venezuela», memorias del XIX Congreso Venezolano de Fitopatología, Barquisimeto, 2005.
- Castellanos, L.; M. E. Lorenzo; B. L. Muiño; A. Rodríguez: «Efecto de quizalofop-p etilo sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *Lecanicillium (Verticillium) lecanii* (Zimm.) Zare & Gams) in vitro», *Fitosanidad* 12(1):45-50, La Habana, 2008.
- Ciba Geigy: *Manual de ensayos de campo en producción vegetal*, 2.ª ed., Basilea, Suiza, 1981.
- CNSV: Lista Oficial de Plaguicidas Autorizados, Departamento Registro de Plaguicidas, CNSV, Minag, La Habana, 2005.
- Fernández-Larrea, O.: *Temas interesantes acerca del control microbiológico de plagas*, Ed. Cidisav, Inisav, La Habana, 2001.
- Loureiro, E. de S.; A. Moino; A. Arnosti; G. C. Souza: «Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatógenos», *Neotropical Entomology* 31 (2): 263-269, Brasil, 2002.

### *Castellanos y otros*

Minag: *Manual técnico de organopónicos y huertos intensivos*, Minag, La Habana, 2000.

Minag: *Manual técnico para organopónicos, huertos intensivos y organoponía semiprotegida*, Minag, La Habana, 2007.

Muiño, B. L.; L. Larrinaga: «Efecto de los plaguicidas sobre *Verticillium lecanii*», *Fitosanidad* 2(1-2):33-35, La Habana, 1998.

Muiño, B. L.; M. Sáenz; M. Stefanova; A. Porras; I. Díaz: «Compatibilidad de *Trichoderma* spp. con algunos plaguicidas y fertilizantes en el cultivo del tabaco», *Fitosanidad* 5(2):3-9, La Habana, 2001.

Viñuela, E.; J. A. Jacas; V. Marco; A. Adrón; F. Badia: «Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en la agricultura y el grupo de trabajo de la OILB. Plaguicidas y organismos beneficiosos I. Insecticidas y acaricidas», *Phytoma* 45:18-25, España, 1993.