

EFFECTO FUNGICIDA DEL SULFATO DE COBRE Y DEL EXTRACTO DE CANELA FRENTE A *Fulvia fulva*, AGENTE CAUSAL DE LA CLADOSPORIOSIS DEL TOMATE.

M De Cara, F Heras, M Santos, *D Palmero, F Carretero, F Marín, M Alcázar, JC Tello

Dpto. Producción vegetal. Universidad de Almería. Ctra. Sacramento s/n. 04120. Almería. Spain, mdecara@ual.es, *Dpto. Producción Vegetal: Botánica y Protección Vegetal. E.U.I.T. Agrícola. Universidad Politécnica de Madrid. Spain

RESUMEN

En este trabajo se comprueba la eficacia *in vitro* de dos productos fungicidas: sulfato tribásico de cobre al 19% p/v (4 mL*L⁻¹ y 6 mL*L⁻¹) y de un preparado comercial de Extracto de canela (1 mL*L⁻¹ y 2 mL*L⁻¹), frente al patógeno causante de la cladosporiosis: *Fulvia fulva*. Se utilizaron dos testigos: medio de cultivo sin añadir nada, y medio de cultivo al que se añadió Polioxina-B (1,5 mL*L⁻¹ y 3 mL*L⁻¹). Tanto el cobre como el extracto de canela resultaron fungicidas para *Fulvia fulva*, impidiendo completamente la germinación de los propágulos del hongo a cualquiera de las dosis ensayadas. En el caso de la polioxina-B, sólo la dosis máxima logró reducir el número de ufc a la décima parte, mientras que la dosis mínima no tuvo efecto sobre el hongo. Los testigos sin adición de fungicida reprodujeron el mismo número de ufc que se inocularon.

Palabras clave: *Cladosporium fulvum*, micosis, extracto vegetal, control de enfermedades.

INTRODUCCIÓN

La cladosporiosis del tomate es una enfermedad fúngica que afecta fundamentalmente a las hojas y tallos de la planta de tomate. El agente causal de la enfermedad es *Fulvia fulva*, un hifomiceto que se multiplica de manera asexual mediante multitud de conidios, que produce en unos conidióforos característicos de la especie (Foto 1). El primer síntoma de la enfermedad es la aparición de pequeñas manchas cloróticas en el haz de la hoja, que se corresponden en el envés con el crecimiento del micelio y estructuras reproductivas de *Fulvia fulva*, de coloración parda o verde oliva (Fotos 2 y 3). Cuando varias manchas se fusionan, la hoja muere y cae, aunque rara vez ataca con tanta virulencia como para llegar hasta este extremo (Foto 4).



Foto 1. Conidióforos de *Fulvia fulva*.



Foto 2. Manchas por *Fulvia fulva* en el haz de una hoja de tomate.



Foto 3. Manchas por *Fulvia fulva* en el envés de una hoja de tomate.

Pese a que la enfermedad es descrita con amplitud para otros países europeos (Blancard, 1988; Messiaen *et al.* 1991; De Wit, 1992), en España son vagas las citas de *Fulvia fulva* como patógeno del tomate. Berra *et al.* (1993) y Berra Lertxundi y Lauricia Alonso (1999) describen la presencia de *Fulvia fulva* en cultivos de invernadero sin especificar topografías concretas. Los graves daños que estos autores muestran en el material fotográfico están muy próximos a los detectados en Almería en los últimos años, donde el patógeno ha sido identificado y asociado al síndrome antes descrito (De Cara *et al.*, en prensa). Es en los cultivos bajo plástico de tomate del sureste ibérico donde se viene observando la progresión de la enfermedad campaña tras campaña, viéndose implicados fundamentalmente los cultivos de la agricultura ecológica, debido entre otras causas, a las limitaciones para el empleo de fungicidas de síntesis por parte de los productores.

En este trabajo se ha evaluado la aptitud fungicida *in vitro* de dos productos autorizados para su aplicación en agricultura ecológica. Se trata de un formulado de sulfato tribásico de cobre al 19% p/v y de un preparado comercial de extracto de canela. El cobre es un fungicida-bactericida clásico, de acción preventiva y curativa, con amplio campo de actividad y buena persistencia. Su campo de actividad incluye hongos, bacterias y algas. En el mercado, el cobre suele aparecer bajo diversas combinaciones químicas entre las que destacan: el hidróxido cúprico, el oxiclورو de cobre, el oxiclورو cuprocálcico, el óxido cuproso, el sulfato de cobre y el sulfato de cobre neutralizado con hidróxido cálcico. El extracto de canela es un producto biológico que posee características fungicidas, bactericidas y antiparasitarias, aunque estas aptitudes no hayan sido contrastadas en otros estudios.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para comprobar la eficacia fungicida de los dos productos se hicieron siembras de fragmentos miceliares, conidios y conidióforos procedentes de 4 hojas distintas con *Fulvia fulva* sobre placas de Petri con medio de cultivo agarizado previamente adicionado con una de las dos dosis ensayadas para cada producto. Se tomó como testigo placas de Petri con medio agar-malta. Y como control negativo se emplearon

placas de Petri con el mismo medio agarizado al que se añadió un formulado de polioxina-B, que es un antibiótico recomendado para el control de *F. fulva*. Las dosis añadidas de fungicida fueron las recomendadas por los fabricantes. Para el sulfato de cobre: 4 mL*L⁻¹ y 6 mL*L⁻¹, para el extracto de canela: 1 mL*L⁻¹ y 2 mL*L⁻¹, y para la polioxina-B: 1,5 mL*L⁻¹ y 3 mL*L⁻¹.

Para la preparación del medio de cultivo se tomaron 7 botellas con 1 litro de agua destilada, y se añadieron 10 g*L⁻¹ de agar y otros 10 g*L⁻¹ de extracto de malta. Todas las botellas fueron llevadas a autoclave y esterilizadas transcurridos 30 minutos a 121 °C. Tras enfriarse los medios se vertieron los fungicidas a las dosis indicadas, cada una de ellas en una botella diferente, y a una de ellas (testigo) no se le añadió fungicida. Estos medios fueron plaqueados a razón de 15 mL en placas de Petri de 9 cm de diámetro. Una vez gelificado el medio se añadió el inóculo.

El inóculo consistió en cuatro suspensiones de hongo procedente de hojas infectadas recogidas el día anterior de un invernadero de Níjar (Almería), que fueron diluidos según las siguientes razones: 10⁻¹, 10⁻² y 10⁻³. La preparación del inóculo se realizó en botes con 100 mL de agua destilada estéril a la que se añadieron dos gotas de Tween[®] 80. A continuación se cogió una hoja infectada con el patógeno y con una lanceta esterilizada se raspó el micelio del hongo del envés. Una vez que la lanceta estuvo repleta de micelio se introdujo en uno de los botes. Se operó del mismo modo con las cuatro hojas de tomate. Posteriormente se realizaron las diluciones con agua destilada y esterilizada. Al final obtuvimos 4 botes con diluciones de 10⁻¹, otros 4 botes con diluciones de 10⁻², otros 4 botes con diluciones 10⁻³. Por último, se añadió 1 mL de inóculo a la placa de Petri y se extendía con asa de vidrio estéril. El proceso se repetiría con un total de 4 placas (repeticiones) para cada medio (dosis de un fungicida), dilución, y procedencia del hongo (hoja infectada). Las placas se dejaron incubando bajo luz natural durante 10 días, tras los cuales se procedió a la lectura de las colonias de *Fulvia fulva* crecidas. Se hizo una nueva lectura de las mismas placas a las 4 semanas de la siembra para confirmar la lectura anterior.

RESULTADOS

Tanto el cobre como el extracto de canela resultaron fungicidas para *Fulvia fulva*, impidiendo completamente la germinación de los propágulos del hongo a cualquiera de las dosis ensayadas. En el caso de la polioxina-B, sólo la dosis máxima logró reducir el número de unidades formadoras de colonia a la décima parte, mientras que la dosis mínima no tuvo efecto sobre el hongo. El testigo sin adición de fungicida reprodujo el mismo número de u.f.c. que se inocularon. Estos resultados fueron iguales para los 4 aislados de *Fulvia fulva* empleados. Mayor detalle de los resultados se puede observar en el Cuadros 1, 2, 3 y 4.

DISCUSIÓN

Resulta clara la inhibición de la multiplicación del patógeno *Fulvia fulva* sobre un medio nutritivo al que se añadió el producto con base de sulfato de cobre por un lado y el de extracto de canela por otro. Esta inhibición responde a la muerte del hongo por parte de dichos fungicidas, pues no se apreció germinación de los propágulos del hongo, incluso después de transcurrido un mes desde la siembra del inóculo, evidenciando que no se trata de productos fungistáticos sino fungicidas. Esta respuesta plantea un principio de eficacia de ambos productos siempre y cuando entren en contacto con las estructuras multiplicativas del patógeno.

CONCLUSIONES

Fulvia fulva, agente causal de la cladosporiosis del tomate, se muestra sensible al sulfato de cobre (formulado del 19% p/v) aplicado a la dosis mínima de 4 mL*L⁻¹, y también lo es para un formulado de extracto de canela a la dosis mínima de 1 mL*L⁻¹. En condiciones *in vitro*, estas dosis resultan letales para el hongo.

BIBLIOGRAFÍA

- Berra, D., H. Hernández, G. Arteaga 1993. Cladosporiosis. En: *Las enfermedades del tomate: Bases para el control integrado*. Ed: MAPA. Dir. Gral. de Sanidad de la Producción Agraria. Madrid. 85-91 pp.
- Berra Lertxundi, D., M. Laucirica Alonso 1999 *Fulvia fulva*. Cladosporiosis del tomate. En: *Fichas de diagnóstico en laboratorio de organismos nocivos de los vegetales*. Ed: MAPA. Madrid. Ficha nº 121.
- Blancard, D. 1988 *Maladies de la Tomate*. Observer. Identifier. Lutter. INRA. París. 212 pp.
- De Cara, M., F. Heras, M. Santos, J.C. Tello Marquina (En prensa). Tomato leaf infection with *Fulvia fulva*; an emerging disease in greenhouses in south-eastern Spain. *Plant Disease*.
- De Wit 1992. *Fulvia fulva* (cooke) Cif. En: *Manual de enfermedades de las plantas*. Editores: I.M. Smith, J. Dunez, R.A. Lelliott, D.H. Phillips, S.A. Archer. Versión española F. García Arenal. Ediciones MUNDI PRENSA. Madrid. 671 pp.
- Messiaen, C.M., D. Blancard, F. Rouxel, R. Lafon. 1991 *Les maladies des plantes maraîchères*. Ed: INRA. París. 552 pp.

Cuadro 1. Multiplicación de *Fulvia fulva* en medio de cultivo adicionado con Sulfato de cobre (19% p/v).

Tratamiento	Dosis	Aislado	Dilución de inóculo	<i>Fulvia fulva</i> (U.f.c./mL)
Sulfato de cobre	4 mL*L ⁻¹	1	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		2	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		3	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		4	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
Sulfato de cobre	6 mL*L ⁻¹	1	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		2	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		3	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		4	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0

Cuadro 2. Multiplicación de *Fulvia fulva* en medio de cultivo adicionado con extracto de canela.

Tratamiento	Dosis	Aislado	Dilución de inóculo	<i>Fulvia fulva</i> (U.f.c./mL)
Extracto de canela	1 mL*L ⁻¹	1	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		2	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		3	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		4	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
Extracto de canela	2 mL*L ⁻¹	1	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		2	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		3	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0
		4	10 ⁻¹	0
			10 ⁻²	0
			10 ⁻³	0

Cuadro 3. Multiplicación de *Fulvia fulva* en medio de cultivo adicionado con polioxina-B.

Tratamiento	Dosis	Aislado	Dilución de inóculo	<i>Fulvia fulva</i> (U.f.c./mL)	Desviación típica
Polioxina-B	1,5 mL*L ⁻¹	1	10 ⁻¹	800	157
			10 ⁻²	48	14
			10 ⁻³	14	9
		2	10 ⁻¹	686	75
			10 ⁻²	65	5
			10 ⁻³	7	2
		3	10 ⁻¹	612	109
			10 ⁻²	86	11
			10 ⁻³	12	1
		4	10 ⁻¹	187	55
			10 ⁻²	20	2
			10 ⁻³	4	2
Polioxina-B	3 mL*L ⁻¹	1	10 ⁻¹	192	87
			10 ⁻²	41	22
			10 ⁻³	7	3
		2	10 ⁻¹	133	65
			10 ⁻²	28	8
			10 ⁻³	4	3
		3	10 ⁻¹	159	36
			10 ⁻²	33	15
			10 ⁻³	7	2
		4	10 ⁻¹	151	33
			10 ⁻²	40	15
			10 ⁻³	11	6

Cuadro 4. Multiplicación de *Fulvia fulva* en medio de cultivo agar-malta.

Tratamiento	Aislado	Dilución de inóculo	<i>Fulvia fulva</i> (U.f.c./mL)	Desviación típica
Ninguno	1	10^{-1}	770	188
		10^{-2}	156	16
		10^{-3}	11	7
	2	10^{-1}	853	104
		10^{-2}	93	15
		10^{-3}	9	4
	3	10^{-1}	632	200
		10^{-2}	114	14
		10^{-3}	21	18