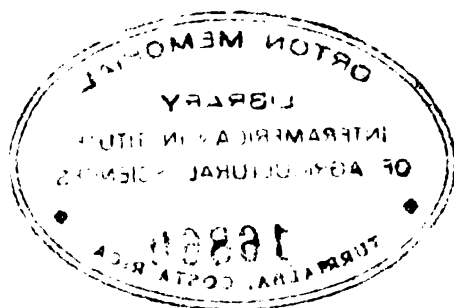


**ESTUDIOS SOBRE EL USO DE ADHERENTES
EN FUNGICIDAS ORGANICOS, BAJO
CONDICIONES TROPICALES**

Por

Geraldo Martins Chaves



INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS

TURRIALBA, COSTA RICA


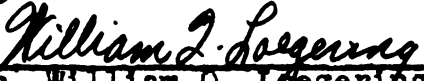
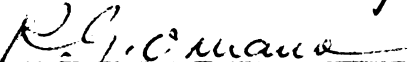
Febrero de 1953

**ESTUDIOS SOBRE EL USO DE ADHERENTES
EN FUNGICIDAS ORGANICOS, BAJO
CONDICIONES TROPICALES**

T E S I S

Sometida al Comité Facultativo, como cum-
plimiento parcial de los requisitos
para optar al grado
de
MAGISTRI AGRICULTURAE
en el
INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS

Aprobado:

 <hr/> Dr. John R. Havis	Consejero
 <hr/> Dr. William Q. Loefering	Comité
 <hr/> Dr. Rodrigo G. Orellana	Comité

Febrero de 1953

DEDICO ESTE TRABAJO

A MI MADRE

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento al Dr. John R. Havis, por su valiosa orientación y estímulo que supo dar a mi trabajo.

A los Dres. William Q. Loegering y Rodrigo G. Orellana, por sus sugerencias y ayuda en la revisión de algunos capítulos de esta tesis.

A la Sra. Lucy Hastings de Gutiérrez, por su cortesía en ceder la cepa de Helminthosporium oryzae utilizada en el método bio-analítico desarrollado.

A la Standard Oil Development Company, por haberme concedido la beca para realizar estudios en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.

Geraldo Martins Chaves

BIOGRAFIA

Geraldo Martins Chaves nació el 25 de junio de 1928 en la ciudad de Vicosá, Estado de Minas Gerais, Brasil.

Hizo sus estudios primarios y secundarios en el Colegio de Vicosá durante los años 1939 a 1947.

En el año 1948 ingresó a la Universidad Rural del Estado de Minas Gerais donde recibió el título de ingeniero agrónomo en 1951.

En 1952 fué becado por la Standard Oil Development Company para realizar estudios en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas hasta enero de 1953.

C O N T E N I D O

	Páginas
<u>INTRODUCCION</u>	1
<u>PRUEBAS DE CAMPO</u>	3
1. <u>MATERIALES Y METODOS</u>	3
2. <u>EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.</u>	6
A- Prueba selectiva basada en el control del tizón tardío de la papa (<u>Phytophthora infestans</u> (Mont.) De Bary.)	6
B- Prueba selectiva basada en el control del tizón tardío del tomate (<u>Phytophthora infestans</u> (Mont.) De Bary.)	11
C- Evaluación de 5 adherentes agregados al SR-406, basada en el control de <u>Cercospora coffeicola</u> Zimm y de <u>Colletotrichum coffeanum</u> Noak, en almácigo de café no sombreado	15
D- Estudio del efecto de la concentración e intervalo de aplicación de 2 adherentes agregados al SR-406, basada en el control de <u>Cercospora coffeicola</u> Zimm y <u>Colletotrichum coffeanum</u> Noa, en almácigo de café no sombreado	18
3. <u>DISCUSION</u>	22
<u>METODO BIOANALITICO PARA EVALUACION COMPARATIVA DE ADHERENTES EN FUNGICIDAS ORGANICOS</u>	25
<u>REVISION DE LITERATURA</u>	25
<u>MATERIALES Y METODOS</u>	26
<u>RESULTADOS</u>	35
A- Ensayos preliminares	35
B- Evaluación comparativa de Armour Sticker, P.E.P.S. y C-Oil 156 por medio de ensayos bioanalíticos	37
C- Posibilidad de utilización del método para otros fungicidas	39
<u>DISCUSION</u>	41
<u>SUMARIO</u>	42
<u>SUMMARY</u>	44

INTRODUCCION

Las enfermedades de las plantas causadas por hongos patógenos ocasionan anualmente gran daño en los cultivos explotados para la subsistencia y bienestar de la humanidad. En los Estados Unidos de Norte América únicamente, se estima una pérdida anual de dos millones de dólares (13).

Hasta nuestros días, uno de los métodos más eficaces que se han encontrado para luchar contra este flagelo ha sido la prevención de las enfermedades por medio de la aplicación de fungicidas. Cerca del 90% de los productos químicos empleados como tales, están hechos a base de cobre, de azufre y sus respectivos derivados (16). Una gran cantidad de estos metales es consumida mundialmente en espolvoreos y pulverizaciones. Las estadísticas demuestran que durante el período de 1941 a 1944 los agricultores norteamericanos solamente utilizaron un promedio anual de 64,500 toneladas de azufre y 10,500 toneladas de cobre, bajo diferentes fórmulas (13).

En los últimos 15 años las investigaciones sobre fungicidas orgánicos han sido altamente estimuladas por el deseo de los investigadores en sintetizar nuevos y mejores productos químicos, por la escasez mundial de cobre y azufre y por el interés de las compañías manufactureras en vender sus productos.

En los Estados Unidos, algunos de estos nuevos productos químicos son hoy extensamente empleados y han mostrado ser tan

buenos o mejores que los inorgánicos para el combate de ciertas enfermedades (1,2,3). Además de un alto poder fungicida estos compuestos presentan una serie de cualidades entre las cuales, de forma general, se puede citar: inocuidad para las plantas, estabilidad química, especificidad de acción, baja toxicidad para el hombre y animales de sangre caliente, facilidad de almacenamiento, facilidad de preparación para su aplicación, aparte de, en su mayoría, ser compatibles con los principales insecticidas y no ser corrosivos.

Aunque el uso de estos nuevos productos químicos en los países de Centro y Sur América no haya pasado prácticamente las fronteras experimentales, muchos se han mostrado promisorios en el combate de enfermedades de gran importancia económica en estas regiones (4,16). Desafortunadamente, en su gran mayoría, han demostrado propiedades adherentes muy pobres (9,10,15,16), siendo incapaces de asegurar un período de protección tan prolongado y eficaz como el caldo bordelés y las sales básicas de cobre (16,16). Posiblemente, ésta es una de las principales causas que limitan el uso de estos productos químicos en los trópicos húmedos.

Considerando las innumerables ventajas que traería a los agricultores el empleo de los fungicidas orgánicos en el reemplazo, por lo menos parcial, de los inorgánicos, se creyó oportuno contribuir para el estudio de tan complejo problema.

Se decidió realizar pruebas de campo con una serie de compuestos conocidos como adherentes, en busca de uno capaz

de permitir el uso de fungicidas orgánicos bajo las condiciones de los trópicos húmedos.

Posteriormente, se desarrolló un método bio-analítico rápido, capaz de evaluar comparativamente estos compuestos, en condiciones de laboratorio y de invernadero.

1. PRUEBAS DE CAMPO

Desde los fines del siglo pasado se ha intentado mejorar la tenacidad de los fungicidas inorgánicos anadiéndoles sustancias supuestas como adherentes. Han sido probados una serie de productos tales como; caseinato de calcio, gelatina, albúmina, harina, aceite de pescado, aceites hidrocarbonatados, aceites glicerídios, etc. Aunque algunos de ellos, como el caseinato de calcio y los aceites en general se han mostrado bastante promisoros, nunca tuvieron su uso difundido, principalmente por ser antieconómicos.

No se encontró literatura sobre investigaciones en la utilización de adherentes en fungicidas orgánicos.

1. MATERIALES Y METODOS

Los ensayos fueron realizados en la finca "La Chinchilla", en la provincia de Cartago, y en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, de Turrialba, Costa Rica.

"La Chinchilla" se encuentra en la Meseta Central, a 5,600 pies de altura. Los datos meteorológicos sobre los promedios anuales de temperatura y precipitación no están disponibles.

Turrialba se encuentra situada en un valle típicamente tropical, a 1,830 pies de altura sobre el nivel del mar. El promedio anual de lluvia en Turrialba es de 107.08 pulgadas, con extremos de 4.72 y 5.39 pulgadas en febrero y marzo y de 13.00 y 22.86 en noviembre y diciembre. El promedio anual de temperatura es de 22.7 C, con extremos de 17.9 C y 27.2 C.

Para locales de los ensayos fueron elegidas áreas donde las enfermedades siempre habían ocurrido con gran severidad.

Como adherentes fué ensayada una serie de compuestos de diferentes naturalezas químicas, pertenecientes a los siguientes grupos:

- a. Aceites secantes emulsificables, con base de petróleo, con y sin agregados de sustancias secantes.

Estos aceites fueron suplidos por la Standard Oil Development Company, como productos experimentales. Son aceites secantes sintéticos, derivados de petróleo, que reciben la denominación de "C-Oils". Las sustancias de este grupo empleadas en el ensayo traían emulsificante en sus fórmulas. Todos tenían la misma composición química, diferenciándose únicamente en el grado de viscosidad y por la presencia o ausencia de agregados secantes.

Considerando que estos productos son de carácter experimental, se decidió nombrarlos únicamente por "C-Oil" con diferentes números, con el fin de facilitar la terminología usada en este trabajo.

Se utilizaron las siguientes sustancias;

C-Oil 155 - (2.2 poises) con secante

C-Oil 156 - (9.0 poises) sin secante

C-Oil 157 - (2.2 poises) sin secante

C-Oil 158 - (9.0 poises) con secante

C-Oil 159 - (8.5 poises) sin secante

b. Producto a base de sulfonados de petróleo.

Multifilm PB.

Producto comercial distribuido por la Colloidal Chemical Corporation.

c. Productos a base de latex de caucho.

P.E.P.S. (56% de polisulfuro polietilénico).

Goodrite VL-600 (50% de clorato polivinil de latex).

Distribuidos comercialmente por la B.F. Goodrich Chemical.

Dow 512 K Latex Paint.

Distribuido por la Dow Chemical Co.

d. Aceites vegetales emulsificables.

Aceite de lino.

Aceite de soja.

e. Aceites blancos emulsificables.

Bayol 85.

Primol B.

f. Producto animal.

Armour Sticker.

Distribuido por la Armour and Company.

Se eligió como fungicida al SR-406 (50%-N-triclorometiltio tethrahidroftalamida) reconocido como uno de los productos químicos más promisoros sintetizados hasta el presente (8,10).

En todos los ensayos se utilizó el SR-406 a la concentración

de 4 libras por 100 galones.

Para la preparación de las soluciones se colocó el fungicida en un recipiente y se hizo una pasta; en seguida se agregó el adherente, se mezcló bien y se añadió más agua. La mezcla fué agitada y vaciada dentro del tanque del pulverizador y se completó el volumen para la cantidad deseada.

Las pulverizaciones fueron hechas con pulverizadores Meyers, de 4 galones de capacidad, adaptados con manómetro y se ajustó la presión para 30 libras por pulgada cuadrada antes de la aplicación en cada parcela.

Durante las aplicaciones se usaron cuadros de tela entre la parcela a ser tratada y las adyacentes, a fin de evitar que un determinado tratamiento salpicase sobre plantas del otro.

EXPERIMENTOS Y RESULTADOS

A. Prueba selectiva basada en el control del tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary).

Este ensayo fué realizado en la finca "La Chinchilla", propiedad del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, en la provincia de Cartago. Durante la realización del ensayo, la temperatura media registrada fué de 19.5 C con extremos de 32°C y 9°C.

Como diseño experimental se usaron parcelas randomizadas, con cuatro repeticiones. Las parcelas tenían un tamaño de aproximadamente 1/532 acre (11x5.7 pies) y estaban distanciadas 30 pulgadas. Cada parcela constaba de 4 hileras con una distancia de 30 pulgadas, y comprendía 48 plantas. Las plan-

tas se distanciaban 12 pulgadas dentro de las hileras. Alrededor del campo experimental se mantuvo un cordón formado por 3 hileras, a las cuales no se aplicó ningún tratamiento, a fin de asegurar una buena fuente de enfermedad. El área total del experimento fué de aproximadamente 1/4 acre.

El suelo fué fertilizado con una mezcla de nitrato de sodio (16% N), superfosfato triple (46% P₂O₅) y muriato de potasio (60% K₂O), en la proporción 4-5-1, aplicada a razón de 2,000 libras por acre. El suelo era arcilloso con pH aproximadamente 6.5.

Se sembró la variedad local, Morada Blanca, extremadamente susceptible al patógeno. La siembra se hizo el 24 de mayo de 1952.

Todos los adherentes fueron agregados al SR-406 a razón de 1.0 pinta por 100 galones, a excepción del Armour Sticker que fué usado a 1.0 libra por 100 galones. Igepal a 0.032% por volumen, fué añadido a la mezcla de SR-406 con el C-011 159, a fin de mejorar las condiciones físicas de la suspensión.

Las mezclas de SR-406 con adherente fueron aplicadas quincenalmente. SR-406 sólo fué aplicado a intervalos semanales y quincenales, como nivel de comparación para la evaluación de los adherentes. Como otro nivel de comparación se incluyó también Parzate aplicado semanalmente a razón de 2.0 libras por 100 galones. Se mantuvieron parcelas no pulverizadas como testigo.

Las pulverizaciones fueron iniciadas el 1º de julio, después del aporcamiento, cuando las plantas tenían cerca de 4 pulgadas de altura. Fueron aplicadas entre 8 y 12 horas de la mañana. Se aplicaron por 8 veces los tratamientos semanales y por 4 veces los quincenales. En las cuatro primeras semanas las pulverizaciones fueron aplicadas a razón de 120 galones por acre y las restantes a 180 galones por acre, aproximadamente.

Durante el período de aplicación de los tratamientos, la precipitación registrada fué de 7.08 pulgadas, el que corresponde a un promedio semanal de 1.01 pulgadas.

Los primeros síntomas de la enfermedad aparecieron alrededor del 7 de julio. En los primeros días de agosto las parcelas testigos presentaban todas las plantas muertas. El patógeno se diseminó por toda el área del cultivo.

La evaluación de los porcentajes de infección se basó en la siguiente escala, desarrollada por la British Mycological Society (5):

Porcentaje	Grado de intensidad de la enfermedad
0	No se observa en el campo
0.1	Sólo algunas plantas afectadas aquí y allá. Hasta una o dos manchas en 12 yardas de radio.
1.0	Manchado leve, o hasta 10 manchas por planta
5.0	Alrededor de unas 50 manchas por planta o hasta una hoja en 10 sanas
25.0	Casi todas las hojas con lesiones. Las plantas todavía mantienen la forma normal. El cultivo puede oler a tizón pero parece verde, aunque cada planta esté enferma.

- 50.0 Cada planta afectada y alrededor de la mitad del área de la hoja destruida. El cultivo aparece verde, salpicado con manchas chocolate.
- 75.0 Las hojas presentan cerca de tres cuartos de sus áreas destruidas por la enfermedad. No se nota predominio del verde ni del castaño en el cultivo. En algunas variedades las hojas más nuevas escaparon a la infección.
- 95.0 Sólo unas pocas hojas aparecen verdes, pero los tallos permanecen verdes.
- 100.0 Todas las hojas muertas; tallos muertos o muriéndose.

Se hicieron tres recuentos del porcentaje de infección el 28 de julio, el 12 y el 28 de agosto. Para el análisis estadístico los porcentajes fueron transformados al seno de los ángulos.

En el primer recuento las diferencias de porcentaje de infección entre los tratamientos pulverizados no fueron suficientemente grandes para que se mostraran estadísticamente significativas, aunque todos ya se presentaban altamente significativos mejores que el testigo. Los datos recogidos el 12 de agosto se equivalen al recuento del 28 del mismo mes que son presentados en la tabla 1, juntamente con los rendimientos de las cosechas llevadas a cabo el 1 y 2 de setiembre.

Según los resultados presentados en la tabla 1, todos los tratamientos fueron altamente significativos mejores que el testigo no pulverizado, tanto para porcentajes de infección como para rendimientos.

SR-406 sin adherente, aplicado a intervalos semanales, fué significativamente mejor que cualquier otro tratamiento al nivel de 5%, para los porcentajes de infección, y altamente

TABLA 1. Evaluación de 14 adherentes agregados al SR-406, basada en el control del tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary) expresado en promedio de porcentaje de infección y rendimiento promedio total, en bushels por acre, de 4 parcelas de 1/532 acre, en "La Chinchilla", Cartago, Costa Rica.

Porcentaje de infección recogido el 19 de Agosto y rendimiento de la cosecha el 10. y 2 de Septiembre de 1952.

Precipitación registrada durante el periodo de aplicación: 7.08 pulg.

Tratamientos e intervalos de aplicación	Porcentaje real de infección	Porcentaje de infección transformada al seno del ángulo	Rendimiento Bushels/acre
1. Testigo. No pulverizado	100.00	90.00	155.02
2. SR-406. Sin adherente.	71.87	58.05	280.75
3. SR-406+Multifilm PB.	71.87	58.05	220.92
4. SR-406+Aceite de soja	71.87	58.05	242.90
5. SR-406+Aceite de lino	71.87	58.05	270.97
6. SR-406+Armour-Sticker	71.25	56.25	269.67
7. SR-406+C.Oil 155	68.70	56.25	266.10
8. SR-406+Dow 512 K Latex	65.62	54.30	247.80
9. SR-406+Bayol 85	62.62	54.30	285.60
10. SR-406+Goodrite VL-600	62.50	52.35	269.67
11. SR-406+Primol B	62.50	52.35	245.32
12. SR-406+C.Oil 158	62.50	52.35	292.92
13. SR-406+C.Oil 157	53.12	52.35	269.75
14. SR-406+PEPS	50.00	44.85	302.65
15. Parzate	46.87	43.20	297.82
16. SR-406+C.Oil 156	40.62	39.45	324.60
17. SR-406+C.Oil 159	37.50	39.60	328.30
18. SR-406. Sin adherentes	23.12	27.67	451.57
	M.D.S. al nivel del 5%	11.04	18.97
	M.D.S. " " 1%	14.74	25.17

Nota: Todos los adherentes fueron aplicados a razón de 1.0 pinta por 100 galones; SR-406 fue aplicado a razón de 4.0 libras por 100 galones, y Parzate a 2 libras por 100 galones. Igepal a 0.032% por volumen fue agregado a la mezcla SR-406+C.Oil 159, como emulsificante.

significativo para los rendimientos. Para los porcentajes de infección, sin embargo, las diferencias entre las aplicaciones semanales de SR-406 y las aplicaciones quincenales de este fungicida mezclado con C-Oil 156 y C-Oil 159 no fueron estadísticamente significativas al nivel de 1%.

Tanto para porcentajes de infección como para rendimiento los tratamientos pulverizados con las mezclas de SR-406 con C-Oil 156, C-Oil 159 y P.E.P.S. fueron estadísticamente superiores a las aplicaciones quincenales de SR-406 sin adherente, no habiendo diferencias significativas entre aquellas. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de SR-406 sólo, pulverizado quincenalmente, y en mezclas con Multifilm PB, aceite de soja, aceite de lino, Armour Sticker, C-Oil 155, Dow 512 K Latex, Bayol 85, Goodrite VL-600, Primol B, C-Oil 157 y C-Oil 158. Sin embargo, para los rendimientos, las aplicaciones de las mezclas de SR-406 con Multifilm PB, aceite de soja, Dow 512 K Latex y Primol B se mostraron estadísticamente inferiores a las pulverizaciones quincenales del fungicida sin adherente.

Las aplicaciones semanales de Parzate, a la concentración usada, se mostraron muy ineficaces en controlar la enfermedad y por esta razón este fungicida no fué tomado como nivel de comparación.

B. Prueba selectiva basada en el control del tizón tardío del tomate. (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary.)

Este ensayo fué realizado en el área del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, en Turrialba.

Los tratamientos, procedimientos y diseño experimental fueron prácticamente los mismos de la prueba selectiva llevada a cabo en "La Chinchilla", Cartago.

Las parcelas tenían un tamaño de 24 pies², (6x4 pies) y se distanciaban de 3 pies. Cada parcela constaba de 4 hileras 2 pies aparte. El área total del experimento fué, aproximadamente 1/12 acre.

El área elegida para el ensayo fué cuidadosamente preparada y la variedad Marglobe, susceptible al patógeno, fué sembrada el 14 de mayo de 1952. Cuando las plantas tenían cerca de 5 pulgadas de altura, se hizo el raleo, dejándose de 200 a 220 en cada parcela.

Alrededor del campo experimental se mantuvo un cordón formado por 2 hileras a las cuales no se aplicó ningún tratamiento, a fin de asegurar una buena fuente de enfermedad.

Las pulverizaciones fueron iniciadas el 10 de junio, cuando las plantas tenían cerca de 10 pulgadas de altura. Las pulverizaciones fueron aplicadas entre las 8 y las 12 horas de la mañana. Se aplicaron por 11 veces los tratamientos semanales y por 6 veces los quincenales. En las 6 primeras semanas las pulverizaciones fueron aplicadas a razón de 90 galones por acre y en las restantes, a 140 galones por acre, aproximadamente.

La evaluación de los adherentes se hizo basada solamente en el porcentaje de infección, utilizándose la escala desarrollada por la British Mycological Society (5).

Durante el período de aplicación de los tratamientos, la precipitación registrada fué de 20.93 pulgadas, lo que corres-

ponde a un promedio semanal de 1.91 pulgadas.

Los primeros síntomas de la enfermedad aparecieron alrededor del 15 de agosto. La diseminación del patógeno no fué uniforme en todo el cultivo, habiendo unas áreas más y otras menos afectadas.

Se hicieron dos recuentos, uno el 20 y otro el 27 de agosto. Los datos recogidos el 20 son equivalentes a los del 27 que son presentados en la tabla 2.

Según estos resultados, todos los tratamientos fueron altamente significativos mejores que el testigo no pulverizado.

La aplicación semanal de SR-406 fué altamente significativo superior a cualquier otro tratamiento.

El tratamiento de la mezcla de SR-406 con C-011 156 fué estadísticamente significativo mejor que la aplicación quincenal de SR-406, al nivel de 5%. Sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las aplicaciones de las mezclas de C-011 156, C-011 159 y C-011 157.

Tampoco hubo diferencia estadísticamente significativa entre las pulverizaciones de SR-406 sin adherente y en mezclas con aceite de lino, aceite de soja, Goodrite VL-600, Dow 512 K Latex, Bayol 85, Primol B, P.E.P.S., C-011 155, C-011 157, C-011 158 y C-011 159. Las mezclas con Multifilm PB y Armour Sticker fueron significativamente inferiores al tratamiento quincenal del fungicida aplicado solo.

TABLA 2. Evaluación de 14 adherentes, agregados al SR-406, basada en el control del tizón tardío del tomate (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary), expresado en promedio de porcentaje de infección de 4 parcelas de aproximadamente 1/2,000 acre, en Turrialba, Costa Rica.

27 de Agosto de 1952.

Precipitación registrada durante el periodo de aplicación: 20.93 pulg.

Tratamientos o intervalos de aplicación	Porcentaje real de infección	Porcentaje de infección transformada al seno del angulo
1. Testigo. No pulverizado	86.25	72.15
2. SR-406+Multifilm PB	62.50	52.50
3. SR-406+Armour Sticker	62.50	52.50
4. SR-406+Aceite de lino	59.37	50.55
5. SR-406+Aceite de soja	56.25	48.60
6. SR-406+Bayol 85	56.25	48.60
7. SR-496+C-011 158	56.25	48.60
8. SR-406+Goodrite VL-600	53.12	46.95
9. SR-406+Dow 512 K Latex	53.12	46.80
10. SR-406+PEPS	50.00	45.00
11. SR-406. Sin adherente	50.00	45.00
12. SR-406+C-011 155	41.87	43.20
13. SR-406+Primol B	46.87	43.05
14. SR-406+C-011 159	43.75	41.37
15. SR-406+C-011 157	43.75	41.37
16. Parzate	43.75	41.37
17. SR-406+C-011 156	31.25	33.90
18. SR-406. Sin adherentes	18.06	23.40
M.D.S. al nivel del 5%		7.55
M.D.S. " " 1%		10.07

Nota: Todos los adherentes fueron aplicados a razón de 1.0 pinta por 100 galones. SR-406 fué aplicado a razón de 4.0 libras por 100 galones y Parzate a 2.0 libras por 100 galones. Igepal a 0.032%, por volumen, fué agregado a la mezcla SR-406+C-011 159 como emulsificante.

C. Evaluación de 5 adherentes agregados al SR-406, basada en el control de Cercospora coffeicola Zimm y del Colletotrichum coffeanum Noak, en almácigo de café no sombreado.

Esta prueba fué realizada en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.

Como diseño experimental se usaron parcelas randomizadas, con 4 repeticiones. Las parcelas tenían el tamaño de 16 pies² (4x4 pies) y estaban distanciadas de 12 pulgadas. Cada parcela constaba de 35 plantas, distribuidas en 5 hileras distanciadas de 12 pulgadas, con las plantas distanciadas de 8 pulgadas dentro de las hileras.

Para este ensayo fueron elegidos los siguientes adherentes: C-011 156, C-011 159, C-011 158, P.E.P.S. y Goodrite VL-600. Todos fueron agregados al SR-406, en la concentración de 1.0 pinta por 100 galones.

Como nivel de comparación se emplearon Fermate y Perenex, ambos a razón de 2.0 libras por 100 galones. Todos estos tratamientos fueron aplicados a 20 días de intervalo.

SR-406 sin adherente fué aplicado a intervalos de 10 y 20 días.

Como testigo fueron mantenidas parcelas que no recibieron ninguna pulverización.

Las aplicaciones fueron empezadas el 21 de octubre de 1952, y se prolongaron hasta el 6 de febrero de 1953. Las plantas tenían aproximadamente 3 meses de edad y hasta entonces las enfermedades habían sido regularmente controladas por aplicaciones semanales de SR-406.

TABLA 3. Evaluación de 5 adherentes, agregados al SR-406, basada en el control de Cercospora coffeeicola Zimm y del Colletotrichum coffeanum Noak en almáximo de café no sombreado, expresado por el promedio del número de hojas sanas presentes en 16 plantitas de 6 meses de edad tomadas de 4 parcelas, en Turrialba, Costa Rica.

6 de febrero de 1953

Precipitación registrada durante el periodo de aplicación: 40.95 pulg.

Tratamientos y concentraciones (por 100 galones de agua)	Intervalo de aplicación (días)	Promedio total de hojas sanas
1. SR-406 (4.0 libras) Sin adherente	10	90.5
2. SR-406 (4.0 libras)+C-011 156 (1.0 pinta)	20	81.5
3. SR-406 (4.0 libras)+PEPS (1.0 pinta)	20	74.0
4. Fermate (2.0 libras) Sin adherente	20	67.0
5. SR-406 (4.0 libras)+C-011 159 (1.0 pinta)	20	58.2
6. SR-406 (4.0 libras)+Goodrite (1.0 pinta)	20	58.2
7. SR-406 (4.0 libras)+C-011 158 (1.0 pinta)	20	57.2
8. Peronox (2.0 libras) Sin adherente	20	46.2
9. SR-406 (4.0 libras) Sin adherente	20	42.8
10. Testigo. No pulverizado	20	16.2
M.D.S. al nivel de 5%		11.8
M.D.S. " " " 1%		15.9

Nota: Igepal al 0.032%, por volumen, fué agregado a la mezcla de SR-406-C-011 159, como emulsificante.

Durante el período de aplicación de los tratamientos se registraron 40.95 pulgadas de lluvia, el que corresponde a un promedio semanal de 2.73 pulgadas.

La evaluación del ataque de Cercospora coffeicola y Colletotrichum coffeanum se basó en el promedio total del número de hojas sanas presentes en las 15 plantitas centrales de cada parcela. Las enfermedades, principalmente la "mancha" de Cercospora, ocurrieron con gran severidad, causando fuerte defoliación en las plantitas de gran parte de los tratamientos.

De acuerdo con los resultados presentados en la tabla 3, todos los tratamientos fueron altamente significativos superiores al testigo no pulverizado.

SR-406 sin adherente, aplicado a intervalo de 10 días, fué estadísticamente superior a todos los otros tratamientos, al nivel de 1%, con excepción de la mezcla de este fungicida con C-Oil 156.

Las pulverizaciones de las mezclas de SR-406 con C-Oil 156, P.E.P.S., C-Oil 159 y Goodrite VL-600 fueron altamente significativos mejores que las aplicaciones del fungicida sin adherente.

No hubo diferencia significativa entre las mezclas con C-Oil 156, y P.E.P.S.; éstas, a su vez, se mostraron altamente significativas superiores a las mezclas con C-Oil 159, C-Oil 158 y Goodrite VL-600 cuyas diferencias no fueron significativas entre sí.

El único tratamiento con adherente que se mostró esta-

distícticamente superior a Fermate sin adherente fué la mezcla de SR-406 con C-Oil 156. No hubo diferencia significativa entre Fermate y las mezclas con C-Oil 158, C-Oil 159 y Goodrite VL-600.

Peronox se mostró tóxico para las plantas en este ensayo y por esta razón no fué tomado como nivel de comparación.

D. Estudio del efecto de la concentración e intervalo de aplicación de dos adherentes agregados al SR-406, basado en el control del Cercospora coffeicola Zimm y Colletotrichum coffeanum Noak, en almácigo de café no sombreado.

Este ensayo fué realizado en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.

Como diseño experimental se usaron parcelas randomizadas, con cuatro repeticiones. Las parcelas tenían un tamaño de 20 pies² y estaban distanciadas 12 pulgadas. Cada parcela constaba de 42 plantas, distribuidas en 6 hileras distanciadas de 12 pulgadas, con las plantas distanciadas 8 pulgadas dentro de las hileras.

Como adherentes fueron elegidos el C-Oil 156 y el P.E.P.S., que se revelaron como los adherentes más promisorios en los ensayos preliminares. Estos adherentes fueron agregados al SR-406, ambos en concentraciones de 0.5 y 1.5 pintas por 100 galones. Como nivel de comparación se aplicó SR-406 sin adherente. Todos los tratamientos fueron aplicados con 10 y 20 días de intervalo.

Como testigo fueron mantenidas parcelas que no recibieron

ninguna pulverización.

Las pulverizaciones empezaron el 4 de noviembre de 1952, una semana después de que las plantas fueron trasplantadas y cuando éstas presentaban solamente las hojas cotiledóneas. El experimento duró 3 meses.

La precipitación registrada durante este período fué de 28.20 pulgadas, lo que corresponde a un promedio semanal de 3.13 pulgadas.

La evaluación del ataque de Cercospora coffeicola y Colletotrichum coffeanum se basó en el promedio total del número de hojas sanas presentes en las 20 plantitas centrales de cada parcela.

Las enfermedades ocurrían con gran severidad, causando fuerte defoliación; alrededor de 80% de los daños causados fué debido al ataque de Cercospora. A los dos meses las parcelas testigos y la mayor parte de los tratamientos aplicados a 20 días de intervalo se presentaban casi completamente defoliados. Los resultados son presentados en la tabla 4. En la tabla 5 se presentan las comparaciones entre tratamientos, intervalos de aplicación y concentraciones de C-011 156 y P.E.P.S.

De acuerdo con los datos presentados en las tablas 4 y 5, todos los tratamientos aplicados a intervalos de 10 días fueron altamente significativos superiores al testigo.

Exceptuándose la mezcla de SR-406 con P.E.P.S. a la concentración de 1.5 pintas por 100 galones, no hubo diferencias

TABLA 4. Evaluación del efecto de la concentración de dos adherentes agregados al SR-406 y del intervalo de aplicación de las pulverizaciones, basada en el control del Cercospora coffeicola Zimm y del Colletotrichum coffeanum Noak en almacigo de café no sombreado, expresado por el promedio del número de hojas sanas presentes en 20 plantitas de 3 meses de edad tomadas de 4 parcelas, en Turrialba, C. R.

6 de Febrero de 1953.

Precipitación registrada durante el periodo de aplicación: 28.20 pulg.

Tratamientos y concentraciones (por 100 galones de agua)	Intervalo de aplicación (días)	Promedio total de hojas sanas
1. SR-406 (4.0 libras)+C-Oil 156 (1.5 pintas)	10	65.75
2. SR-406 (4.0 libras)+PEPS (1.5 pintas)	10	65.75
3. SR-406 (4.0 libras)+C-Oil 156 (0.5 pinta)	10	53.25
4. SR-406 (4.0 libras)+PEPS (0.5 pinta)	10	51.25
5. SR-406 (4.0 libras) Sin adherente	10	22.50
6. SR-406 (4.0 libras)+PEPS (1.5 pintas)	20	17.00
7. SR-406 (4.0 libras)+C-Oil 156 (1.5 pintas)	20	7.75
8. SR-406 (4.0 libras)+C-Oil 156 (0.5 pinta)	20	5.25
9. SR-406 (4.0 libras)+PEPS (0.5 pinta)	20	4.75
10. SR-406 (4.0 libras) Sin adherente	20	1.50
11. Testigo. No pulverizado		1.00
M.D.S. al nivel de 5%		9.84
M.D.S. " " " 1%		13.25

TABLA 5. Comparaciones entre tratamientos, inter-
valos de aplicación y concentraciones de
C-Oil 156 y de P.E.P.S., basadas en los
promedios de hojas sanas presentados en
la Tabla 4.

Comparación	Cuadrado medio
<p>Tratamientos con adherentes versus sin adherentes-cada 20 días</p> <p>Tratamientos con adherentes versus sin adherentes -cada 10 días</p> <p>Intervalo de aplicación -cada 10 días versus cada 20 días</p> <p>Concentración de los adherentes - 0.5 pinta versus 1.5 pintas</p> <p>C-Oil 156 versus PEPS - aplicados cada 20 días</p> <p>C-Oil 156 versus PEPS - aplicados cada 10 días</p> <p>C-Oil 156 versus PEPS</p> <p>C-Oil 156 cada 10 días versus C-Oil 156 cada 20 días</p> <p>P.E.P.S. cada 10 días versus P.E.P.S. cada 20 días</p>	<p>3,533 N.S.</p> <p>9.134**</p> <p>423.403**</p> <p>18.692**</p> <p>1.613 N.S.</p> <p>0.085 N.S.</p> <p>0.193 N.S.</p> <p>242.148**</p> <p>193.194**</p>

estadísticamente significantes entre el testigo no pulverizado y las aplicaciones a intervalos de 20 días.

Considerando el intervalo de aplicación de 10 días, las pulverizaciones de SR-406 en mezcla con C-Oil 156 y con P.E.P.S., en ambas concentraciones usadas, se mostraron altamente significativas superiores al tratamiento del fungicida sin adherente. Las pulverizaciones de las mezclas de SR-406 con ambos adherentes a la concentración de 1.5 pintas por 100 galones fueron altamente significativos mejores que las mezclas del fungicida con los mismos productos químicos a la concentración de 0.5 pinta por 100 galones.

Tanto para concentraciones como para intervalos de aplicación no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las pulverizaciones de las mezclas de SR-406 con C-Oil 156 y con P.E.P.S.

DISCUSION

En el ensayo preliminar basado en el control del tizón tardío de la papa, en "La Chinchilla", según los resultados presentados en la tabla 1, se observaron discrepancias entre las evaluaciones de los adherentes expresadas en porcentajes de infección y en rendimientos. Las pulverizaciones de las mezclas de SR-406 con Multifilm PB, Dow 512 K Latex, Primol B y aceite de soja, aunque no fueron estadísticamente diferentes de las aplicaciones quincenales del fungicida solo, para los porcentajes de infección, fueron inferiores para los rendimientos. No se ha encontrado una explicación satis-

factoria de la causa de estas variaciones. Aunque es posible que las mezclas del fungicida con estos adherentes hayan sido tóxicas a las plantas, no se notaron síntomas de fitotoxicidad en ninguno de los ensayos conducidos.

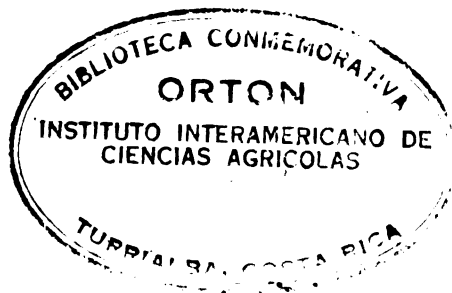
De acuerdo con los resultados presentados en las tablas 1, 2, y 3, se notó claramente que hubo divergencia en el comportamiento de los adherentes en los diversos ensayos realizados. Según los resultados obtenidos en la prueba basada en el control del Phytophthora infestans en cultivo de papas, en "La Chinchilla", C-Oil 156, C-Oil 159 y P.E.P.S. se revelaron como los mejores adherentes. En el ensayo basado en el control del tizón tardío del tomate bajo las condiciones de Turrrialba, como muestran los resultados de la tabla 2, solamente el C-Oil 156 se mostró efectivo. En cambio, en el control del Cercospora coffeicola y Colletotrichum coffeanum, de acuerdo con los resultados presentados en la tabla 3, C-Oil 156 y P.E.P.S. se asemejaron y se mostraron superiores al C-Oil 159. No obstante, C-Oil 156 y C-Oil 159 son productos químicos de la misma composición, siendo el último apenas 0.5 partes menos viscoso.

Debido al hecho de que el C-Oil 159 empleado se mostraba más viscoso que el C-Oil 156, a punto de ser necesario agregar un emulsificante para mejorar las condiciones físicas de su mezcla con SR-406, es posible que este producto se haya deteriorado por proceso de polimerización (18). Además, es probable que esta deterioración haya llegado a un grado más alto durante el período de tiempo entre la realización de estos experi-

mentos. Por estas razones, este compuesto químico fué eliminado, considerándose como adherentes más promisoros, en los ensayos conducidos, al C-011 156 y al P.E.P.S.

Parece que la concentración del adherente es un factor de importancia en la efectividad del mismo; según indican los resultados presentados en las tablas 4 y 5, las pulverizaciones de las mezclas de SR-406 con C-011 156 y con P.E.P.S. dieron mejores resultados con estos productos empleados a la concentración de 1.5 pintas que a 0.5 pinta.

Aunque los resultados obtenidos en el presente estudio demostraron que el C-011 156 y el P.E.P.S. fueron capaces de mejorar la tenacidad del SR-406, no se obtuvo suficiente información que justifique la recomendación de estos productos para uso en la práctica.



2. METODO BIOANALITICO PARA EVALUACION COMPARATIVA DE ADHERENTES EN FUNGICIDAS ORGANICOS

Antes de recomendarse cualquier adherente para su uso en la práctica, es necesario que se lleven a cabo extensos experimentos de campo para la evaluación segura de los mismos. Estos experimentos son costosos, laboriosos y consumidores de tiempo.

Un método rápido de laboratorio para ensayar compuestos químicos propuestos como adherentes podría auxiliar muchísimo la evaluación de los mismos, principalmente eliminando aquellos sin ningún valor. Con este propósito en mente se desarrolló un método bioanalítico capaz de ensayarlos en un período de tiempo relativamente corto.

REVISION DE LITERATURA

Los ensayos bioanalíticos para evaluación de antibióticos, bactericidas y fungicidas por medio de las zonas de inhibición producidas por discos de papel y de hojas tratadas sobre platos de agar inoculado con un organismo-prueba, han alcanzado un alto grado exactitud.

Loo et al (12), utilizando el Bacillus subtilis, desarrollaron un método standard de bioanálisis para determinar concentraciones de soluciones de estreptomycin pipetadas sobre discos de papel de filtro.

Thornberry (17), modificó el método de Loo et al (12), y lo empleó para evaluación de fungicidas y bactericidas, usando

una cepa invariable de esporas del Bacillus subtilis; manteniendo en existencia a baja temperatura, los platos de agar inoculado. Basado en el hecho de que el sulfato de cobre y el nitrato de plata no causaron inhibición sobre el crecimiento del organismo y que el cloruro mercurico, substancia de baja disociación, se mostró altamente efectivo, Thornberry sugirió que productos químicos ionizables que tienen el cation como componente activo no son aplicables al método. El autor explica el fenómeno como siendo debido a la adsorción de los cationes activos por aniones del agar ionizado y por el papel de filtro negativamente cargado, impidiendo que los mismos se difundan en el medio de cultivo.

Leben y Keitt (11) utilizando esporas de Colletotrichum circinans (Berk) Vogl. desarrollaron un método standard para evaluar cantidades de antibióticos depositados sobre hojas tratadas, comparando las áreas de inhibición producidas por muestras de hojas con aquellas producidas por cantidades conocidas pipetadas sobre discos de papel secante. Estos autores también emplearon el método para evaluar el efecto de adherentes agregados a la antimicina, sometiendo plantas tratadas a la acción de lluvia artificial y comparando las zonas de inhibición producidas sobre el crecimiento del hongo, por muestras de discos de hojas.

MATERIALES Y METODOS

El método presentado en este trabajo se basa en la comparación relativa de las áreas de la zona de inhibición produ-

cidas sobre cultivos de Helminthosporium oryzae van Breda de Haan en platos de Petri, por muestras de discos de hojas de plantas tratadas con fungicida sólo y con adherente, antes y después de haber sido éstas expuestas a las condiciones ambientales.

El método depende de la difusión del residuo del fungicida retenido en el disco de hoja hacia el medio de agar.

La efectividad del adherente es evaluada por su capacidad en retener mayor o menor cantidad de residuo, siendo esta cantidad medida por el área de inhibición producida sobre el cultivo del hongo.

Los trabajos fueron realizados en los laboratorios e invernadero del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, en Turrialba, Costa Rica.

Con el objeto de probar la efectividad del método, SR-406 fué ensayado sólo y en mezcla con 3 adherentes cuyos comportamientos ya eran conocidos en los experimentos de campo.

Los materiales y métodos fueron, en general, semejantes a aquellos empleados por Leben y Keitt (11) para probar la actividad de antibióticos, con algunas modificaciones.

Pulverización de las plantas experimentales y obtención de las muestras de discos de hojas.

Las plantas experimentales fueron cultivadas en macetas y se utilizaron cacao y frijol de 5 y 2 semanas de edad, respectivamente.

Las pulverizaciones fueron aplicadas por un atomizador De

Vilbiss Nº 15. Como fuente de presión se usó un pulverizador Meyers de 4 galones, equipado con manómetro, al cual se conectó el atomizador por medio de un tubo de hule de 1/4 de pulgada. La conexión se hizo en la extremidad del tubo de metal, donde se atornilla la boquilla. La presión de atomización fué de 5 libras por pulgada cuadrada, y se ajustó la misma antes del tratamiento de cada planta. Antes de las aplicaciones, agitó vigorosamente el atomizador. Las plantas fueron atomizadas, individualmente, sobre la superficie superior de las hojas, hasta cerca del punto de escurrimiento y dejadas a car por 3 ó 4 horas.

Se recogieron las muestras de discos por medio de un sacabocados que los cortaba con un diámetro de 15 mm., según ilustra la figura 1. Se tomó cada disco individualmente, al recogerse muestras de todas las plantas tratadas. El sacabocados fué limpiado cuidadosamente con algodón, antes de ser usado en las muestras de tratamientos diferentes, para evitar que tuviera residuos de los tratamientos anteriores. En general, para cada tratamiento se recolectaron más muestras de las necesarias. Los discos pertenecientes a cada tratamiento fueron colocados en placas de Petri, con la parte tratada vuelta hacia arriba, evitándose el roce de los mismos para que no se alterase la cantidad real de residuo retenido en sus superficies. La recolección se hizo pocos momentos antes de usarlos.

Después de la primera recogida de muestras, las plantas fueron expuestas a las condiciones ambientales, en la parte



FIGURA 1. Manera de recoger las muestras de discos, tipo de sacabocados, y tamaño de la planta utilizada.

descubierta del invernadero, haciéndose otras dos recolecciones después de períodos de 5 y 13 días, cuando éstas habían recibido 2.11 y 2.45 pulgadas de lluvia, respectivamente.

Hongo-prueba, método de cultivo y obtención de esporas.

Se utilizó como hongo-prueba el Helminthosporium oryzae van Breda de Haan, obtenido por transferencias de cultivo ya existente en el laboratorio de fitopatología del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. El organismo había sido aislado de plantas enfermas de arroz (Oryzae sativa L.).

Como medio de cultivo se usó papa-dextrosa-agar, según la fórmula; agua destilada - 1,000 cc.; agar - 17 gr.; papas peladas 200 gr.; dextrosa - 20 gr. Este medio fué ajustado a un pH de aproximadamente 6.8.

Transferencias periódicas fueron hechas de cultivos de 10 a 12 días de edad, a medida que se hicieron necesarias. En cada ensayo se utilizaron transferencias provenientes del mismo tubo de cultivo.

Se utilizaron 6 tubos de cultivo de 7 a 12 días de edad para la obtención de 25 cc. de la suspensión acuosa de esporas. Se añadieron aproximadamente 20 cc. de agua destilada esterilizada a uno de los tubos de cultivo a usarse y por medio de un policía de hule se friccionó suavemente la superficie del medio a fin de separar las esporas del cultivo. Esta operación fué hecha con cuidado para evitar que partículas de agar se desgarrasen y dificultasen la filtración que debía hacerse posteriormente. Esta suspensión fué transferida de cultivo a cultivo, procediéndose siempre en la misma forma,

hasta la obtención de la suspensión final que se filtró a través de una tela de gasa en un tubo de prueba de 25x200 mm. En seguida se completó la suspensión para el volumen deseado agregándose agua destilada esterilizada. La suspensión empleada tenía una concentración de esporas suficiente para producir un crecimiento uniforme del hongo sobre toda la superficie del plato inoculado.

Preparación de la suspensión agar-esporas y montaje del ensayo.

Las pruebas se realizaron en platos de Petri pirex de 150 mm. de diámetro. Estos fueron arreglados sobre una mesa de superficie plana y por medio de una probeta graduada, se vertió en cada uno 50 cc. de papa-dextrosa, ^{agar} en estado de fusión, de 80 a 90 C. Este procedimiento tuvo por fin la obtención de una capa-base plana que facilitase la distribución uniforme de la suspensión agar-esporas a añadirse posteriormente. Los platos disponibles para el ensayo tenían el fondo irregular.

Para la preparación de la suspensión agar-esporas se empleó un medio de papa-dextrosa-agar de pH 4.0-0.2, cuya composición era la misma que se usó para cultivar el hongo. Se ajustó el pH con HCl N. según el método colorimétrico corriente (13). La acidificación del medio se hizo a fin de evitar contaminación bacteriana.

Por medio de una pipeta graduada se añadieron 2 cc. de la suspensión acuosa de esporas a una probeta y, en seguida, se vertieron sobre la misma 13 cc. del medio acidificado, en

estado de fusión, a una temperatura de 35 a 40°C. En el acto de vaciar el agar sobre la suspensión se tomó cuidado en mantener la probeta y el erlenmeyer en posición bien horizontal, dejándose que el agar se deslizase por las paredes de la primera, de modo que no hubiera formación de burbujas. Pruebas preliminares mostraron que las burbujas formadas en la superficie del medio perjudican la configuración del área de inhibición de crecimiento del hongo.

En seguida, se agitó por algunos segundos la suspensión agar-esporas y se vertió inmediatamente en los platos de Petri, sobre la capa-base de agar ya solidificada, inclinándose ligeramente los platos en varios movimientos, hasta obtener la distribución uniforme de la misma.

La suspensión agar-esporas fué preparada individualmente para cada plato. Antes de cada preparación se agitó vigorosamente la suspensión de esporas. Pruebas preliminares mostraron que el espesor de la capa de agar inoculado tiene gran influencia en la configuración de los márgenes del área de inhibición. Se añadió un volumen apenas suficiente para cubrir toda la superficie del plato.

Una vez preparados, los platos fueron cerrados y se dejó que la capa de agar inoculado se solidificase por 30 ó 40 minutos.

En seguida, por medio de una pinza se colocaron los discos con la superficie tratada vuelta hacia abajo, sobre la capa de agar. Se comprimió suavemente cada uno, a fin de asegurar el contacto perfecto con el medio.

Los discos fueron distribuidos equidistantemente, a fin de evitar superposición de las áreas de inhibición a ser formadas posteriormente. Para facilitar esta operación se colocaron los platos sobre un cartón en el cual se había marcado la posición exacta de los discos, de manera que, por transparencia, se podía ver la debida colocación de éstos. En cada plato se pusieron cuatro discos, cada uno proveniente de un tratamiento diferente. Cada tratamiento fué repetido de 8 a 10 veces, cada uno en un plato diferente. En cada ensayo se usó como testigo un plato de cultivo donde se colocaron discos de hojas no tratadas.

Después de colocados los discos se reemplazaron las tapas originales de los platos, a fin de evitar que gotas de condensación formada cayeran sobre el medio, perjudicando la configuración de las áreas de inhibición.

En la Figura 2 se enseña parte del material utilizado.

Los platos fueron incubados en condiciones de laboratorio, durante 18 horas. La temperatura del ambiente varió entre 25 y 26° C.

Medida del área de inhibición.

Se midió el diámetro del área de la zona de inhibición de crecimiento del hongo por medio de una regla milimétrica, con un milímetro de aproximación. Para facilitar la medición los platos fueron colocados sobre una lámina de vidrio sostenida por una armadura de metal e iluminada desde abajo por un bombillo común de 50 watt.

La presentación de los datos se hizo por el área de la zona de inhibición, o sea, excluyéndose el área del disco de hoja.



FIGURA 2. Parte de la cristalería utilizada en la realización del método bio-analítico.

RESULTADOS

Se realizaron pruebas preliminares para determinar con qué exactitud el método podría medir la cantidad de depósito del fungicida sobre los discos de hojas.

Para probar la efectividad del método, SR-406 fué ensayado solo y con 3 diferentes adherentes.

Fueron llevados a cabo ensayos para determinar la posibilidad de utilizar el método para diversos fungicidas.

A. Ensayos preliminares.

Con objeto de determinar la exactitud con que el método bioanalítico sería capaz de medir la cantidad de fungicida depositada en las hojas, el 24 de diciembre de 1952 fueron llevadas a cabo dos pruebas preliminares. Plantas de cacao y frijol, fueron atomizadas con SR-406 a las concentraciones de 0.5, 2.0, 4.0 y 6.0 libras por 100 galones. Para cada tratamiento se utilizaron 4 plantas de cacao y 4 de frijol. Fueron usados 7 platos de Petri para cada ensayo, cada uno conteniendo una repetición de cada tratamiento.

Los datos fueron recogidos 48 horas después de montado el ensayo.

Los resultados son presentados en la tabla 6 y en los gráficos 1 y 2. En las tablas 7 y 8 se encuentran los análisis estadísticos comparativos de los promedios totales de las áreas de la zona de inhibición producidas en cada caso. En la figura 3 se enseña uno de los platos del ensayo.

El ensayo realizado con discos de hojas de cacao dió los siguientes promedios totales del área de la zona de inhibición;

TABLA 6. Promedios de las áreas reales de las zonas de inhibición de crecimiento de Helminthosporium oryzae, producidas por mues-tras de discos de hojas de cacao y frijol atomizadas con 4 concentraciones de SR-406, sobre agar inoculado con esporas del hongo cultivado en platas de Petri.

Ensayos realizados el 24 de diciembre de 1952 en Turrialba, Costa Rica.

Concentración de SR-406 libras por 100 galones	Promedio del área real de la zona de inhibición, cm ²	
	cacao	frijol
0.5	1.16	1.12
2.0	3.49	3.43
4.0	4.70	4.45
6.0	6.50	5.57
M.D.S. al nivel de 5%	0.64	0.43
M.D.S. " " " 1%	0.87	0.60

Nota: Promedios de siete platos, cada uno comprendiendo una repetición de cada tratamiento.

TABLA 7.

Analisis de variancia de los promedios totales de las áreas de la zona de inhibición producidas sobre Helmintosporium oryzae por muestras de discos de hojas de cacao, según los resultados presentados en la tabla 6.

Fuente de variación	G. L.	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F	5% F	1% F
Total	27	97.76				
Tratamientos	3	90.72	30.32	93.00 ^{**}	3.16	5.09
Repeticiones	6	1.35	0.225	0.69	3.92	7.52
Error	18	5.69	0.326			

TABLA 8.

Analisis de variancia de los promedios totales de las áreas de la zona de inhibición producidas sobre Helmintosporium por muestras de discos de hojas de frijol, según los resultados presentados en la tabla 6.

Fuente de variación	G. L.	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F	5% F	1% F
Total	27	83.18				
Tratamientos	3	75.70	52.230	168.20 ^{**}	3.16	5.09
Repeticiones	6	4.77	0.795	5.30 [†]	3.92	7.52
Error	18	2.71	0.150			

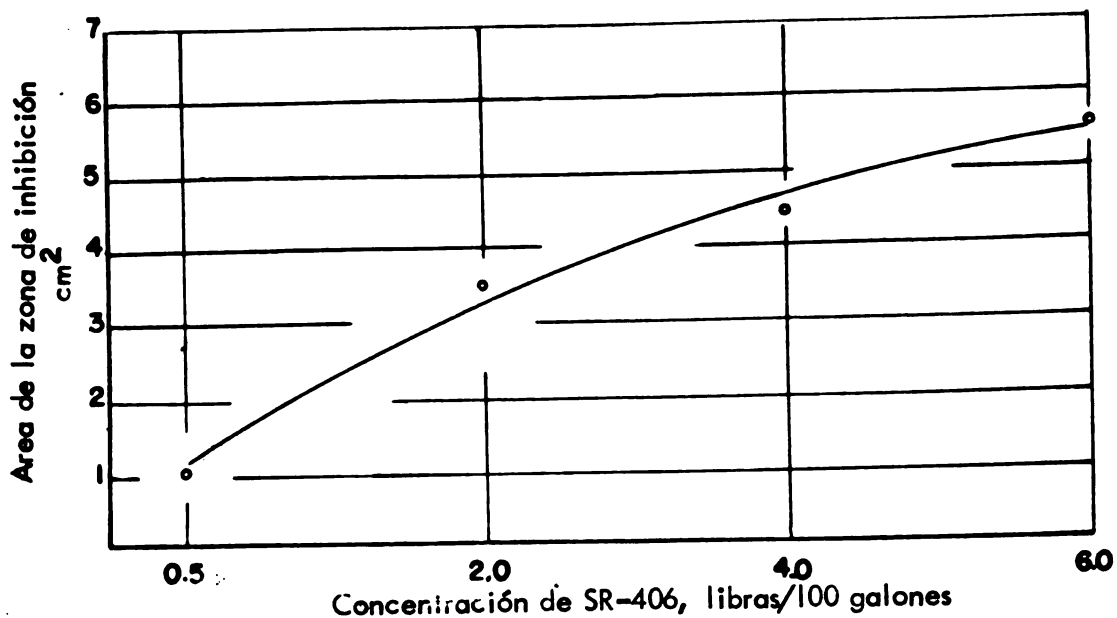


GRAFICO 2. Relación entre las concentraciones de SR - 406 pulverizadas sobre plantas de frijol y el área de la zona de inhibición producida por muestras de discos de hojas.

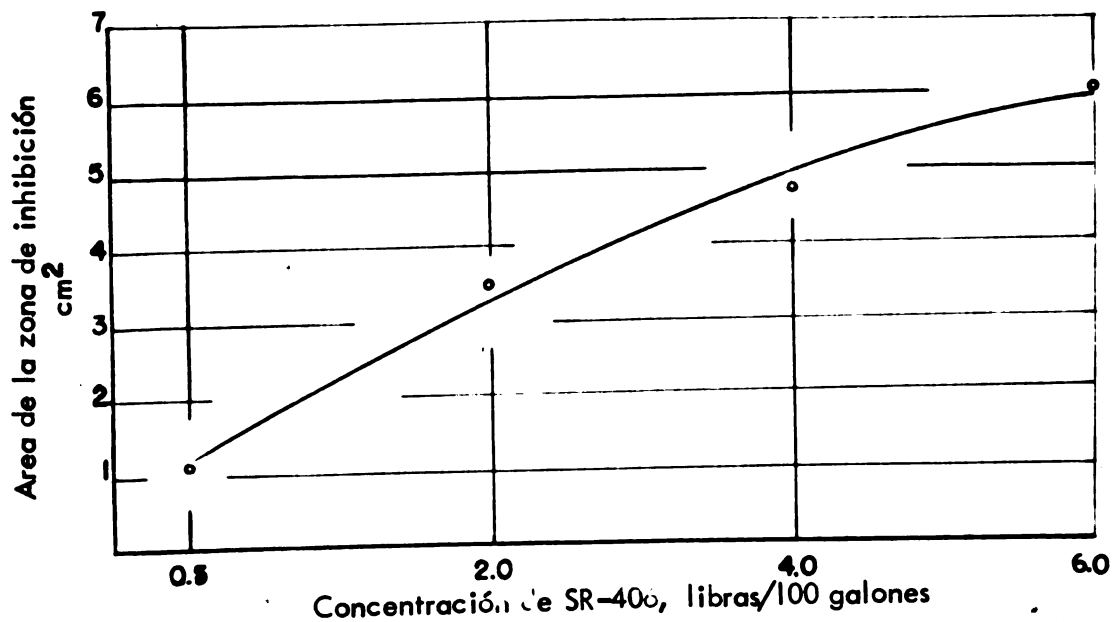


GRAFICO 1. Relación entre las concentraciones de SR- 406 pulverizadas sobre plantas de cacao y el área de la zona de inhibición producida por muestras de discos de hojas.

1.16 cm², 3.49 cm², 4.70 cm² y 6.06², respectivamente, para 0.5, 0.2, 4.0 y 6.0 libras de SR-406 por 100 galones.

Las diferencias entre estos promedios analizadas estadísticamente resultaron altamente significativas.

En el ensayo realizado con discos de hojas de frijol, los promedios totales de las áreas de las zonas de inhibición fueron, a su vez, 1.11 cm², 3.42 cm², 4.45 cm.² y 5.57 cm.² También en este caso las diferencias resultaron altamente significativas estadísticamente.

Otros dos ensayos realizados con discos de hojas de cacao dieron resultados equivalentes a los presentados en este trabajo.

B. Evaluación comparativa de Armour Sticker, P.E.P.S. y C-Oil 156 por medio de ensayos bio-analíticos.

Plantas de cacao fueron atomizadas con SR-406 a la concentración de 4.0 libras por 100 galones, aplicado sin adherente y en mezcla con Armour Sticker, a la concentración de 1.0 libra por 100 galones, con C-Oil 156 y con P.E.P.S., cada uno de estos productos a la concentración de 1.0 pinta por 100 galones.

La primera recogida de muestras fué llevada a cabo 3 horas después de las aplicaciones. Se hicieron otras dos recolecciones después de periodos de 5 y 13 días, en los cuales las plantas habían recibido 2.11 y 2.45 pulgadas de lluvia respectivamente.

Las zonas de inhibición fueron medidas el 11, 16 y 24 de enero de 1953.

Los promedios de las áreas reales de las zonas de inhibi-

ción producidas por las muestras de discos de hojas de los 4 tratamientos para los 3 ensayos realizados, son presentados en la tabla 9 y en el gráfico 3. La figura 4 enseña uno de los platos del último ensayo.

De acuerdo con los resultados presentados, en el primer ensayo, realizado 3 horas después de los tratamientos, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de las áreas reales de inhibición producidas por discos de hojas, para ninguno de los tratamientos.

Para el ensayo llevado a cabo 5 días después de las aplicaciones, cuando las plantas habían sido sometidas a 2.11 pulgadas de lluvia, el promedio de las áreas reales de las zonas de inhibición producidas por los discos de hojas tratados con la mezcla de SR-406 con P.E.P.S. fué altamente significativo superior a aquellos producidos por los discos de hojas tratados con el fungicida solo y en mezcla con Armour Sticker. No hubo diferencia significativa entre los promedios correspondientes a la mezcla de SR-406 con Armour Sticker y al fungicida sin adherente. Tampoco hubo diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de las mezclas del fungicida con P.E.P.S. y con C-011 156.

El promedio de la mezcla de SR-406 con C-011 156 fué altamente significativo superior al promedio del fungicida sin adherente. Sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los promedios correspondientes a las mezclas del fungicida con C-011 156 y con Armour Sticker.

En el ensayo realizado 13 días después de las aplicaciones, cuando las plantas habían recibido 2.45 pulgadas de lluvia,

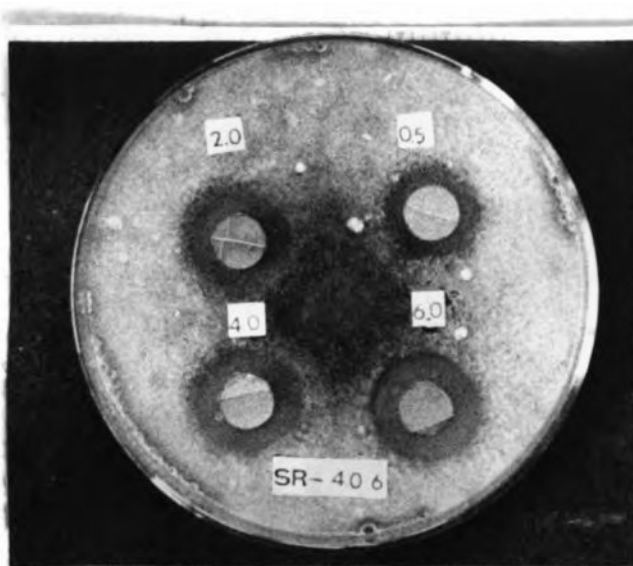


FIGURA 3. Zonas de inhibición producidas sobre cultivo de Helminthosporium oryzae por discos de hojas de cacao atomizadas con 4 concentraciones de SR-406.

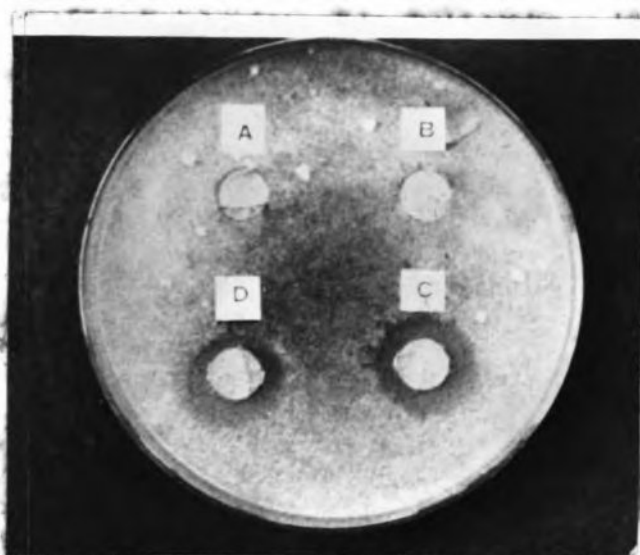


FIGURA 4. Zonas de inhibición producidas sobre cultivo de Helminthosporium oryzae por discos de hojas de cacao atomizadas con; A. SR-406 sin adherente; B. SR-406-Armour Sticker; C. SR-406-C-011 156; D. SR-406-P.E.P.S.; 13 días después de la aplicación, cuando las plantitas se habían sometido a 2.45 pulgadas de lluvia.

TABLA 9. Evaluación comparativa de 3 adherentes agregados al SR-406, por medio de ensayos bio-analíticos, utilizando platos de cultivo de *Helminthosporium oryzae* y muestras de discos de hojas de cacao tratadas.

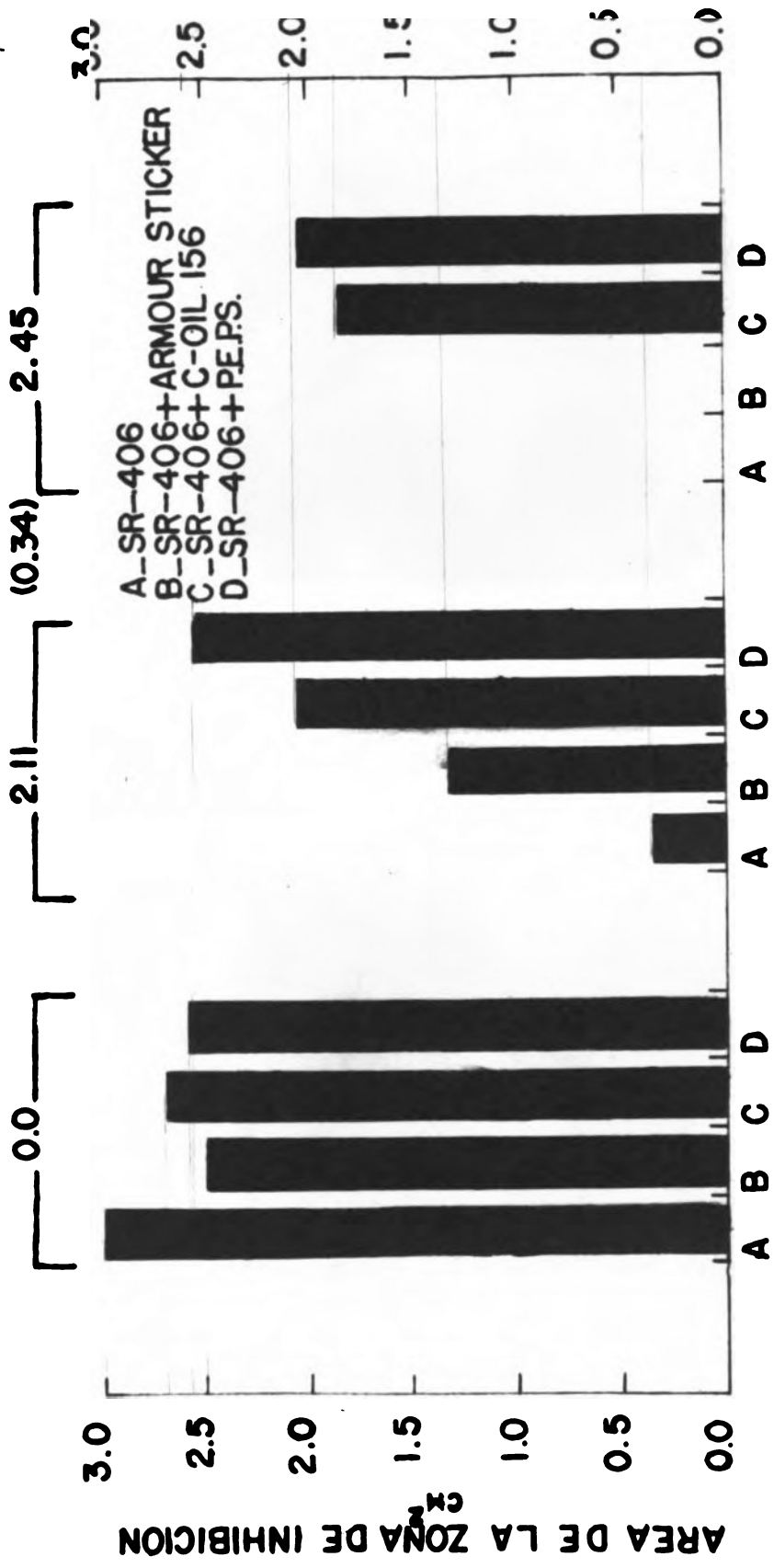
Datos recogidos el 11, 16 y 24 de enero de 1953 en Turrialba, Costa Rica.

Tratamiento	Promedio del área real de la zona de inhibición en cm ² y precipitación a que fueron expuestas las plantas		
	3 hojas después de la aplicación	5 días después de la aplicación	13 días después de la aplicación
	0.0 pulgadas	2.11 pulgadas	2.45 pulgadas
SR-406 - Sin adherente	3.00	0.34	0.00
SR-406 - Armour Sticker	2.50	1.22	0.00
SR-406 - P.E.P.S.	2.47	2.59	2.08*
SR-406 - C-011 156	2.70	2.01	1.83*
M.D.S. al nivel de 5%	N.S.	0.90	* teste "t" N.S.
M.D.S. " " " 1%		1.36	

Nota: Promedios de 10 platos para el ensayo realizado 3 horas después de la aplicación y de 9 platos para los otros dos. P.E.P.S. y C-011 156 fueron usados a razón de 1.0 pinta por 100 galones y Armour Sticker a 1.0 libra por 100 galones. SR-406 fué usado a 4.0 libras por 100 galones.

PULGADAS DE LLUVIA

ya



3 HORAS 5 DIAS 13 DIAS
 INTERVALO ENTRE RECOGIDA DE LAS MUESTRAS, DESPUES DE LOS TRATAMIENTOS

GRAFICO - 3

COMPARACION RELATIVA DEL EFECTO DE 3 ADHERENTES AGREGADOS AL SR-406, EVALUADOS POR EL AREA DE LA ZONA DE INHIBICION PRODUCIDAS SOBRE HELMINTOSPO-RIUM ORYZAE, POR MUESTRAS DE DISCOS DE HOJAS TRATADAS.

los discos de hojas tratados con la mezcla de SR-406 con Armour Sticker y con el fungicida sin adherente no produjeron áreas de inhibición.

Aun en este ensayo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de las áreas reales de inhibición producidos por las mezclas de SR-406 con E.E.P.S. y con C-Oil 156.

C. Posibilidad de utilización del método para otros fungicidas.

Siete diferentes fungicidas fueron ensayados a fin de determinar la posibilidad del uso del bioanálisis desarrollado para otros compuestos químicos además de SR-406. Todos los productos elegidos fueron atomizados sobre plantitas de cacao a concentración de 4.0 libras por 100 galones.

Los siguientes produjeron zonas de inhibición bien definidas: Phygon (50% 2,3-dicloro-1,4-naftoquinona); Fermate (76% dimetilditiocarbamato ferrico); Karbam (dimetilditiocarbamato ferrico); Bioquin¹ (8 quinolinolato de cobre) y Zerlate (76% ditiocarbamato de zinc dimetil) (5).

Parzate o Dithane (65% bisditiocarbamato de zinc etileno) y Crag 658 (95% cromato complejo de cobre y zinc) (7), no produjeron áreas de inhibición.

La figura 5 muestra algunos de los platos de este ensayo.

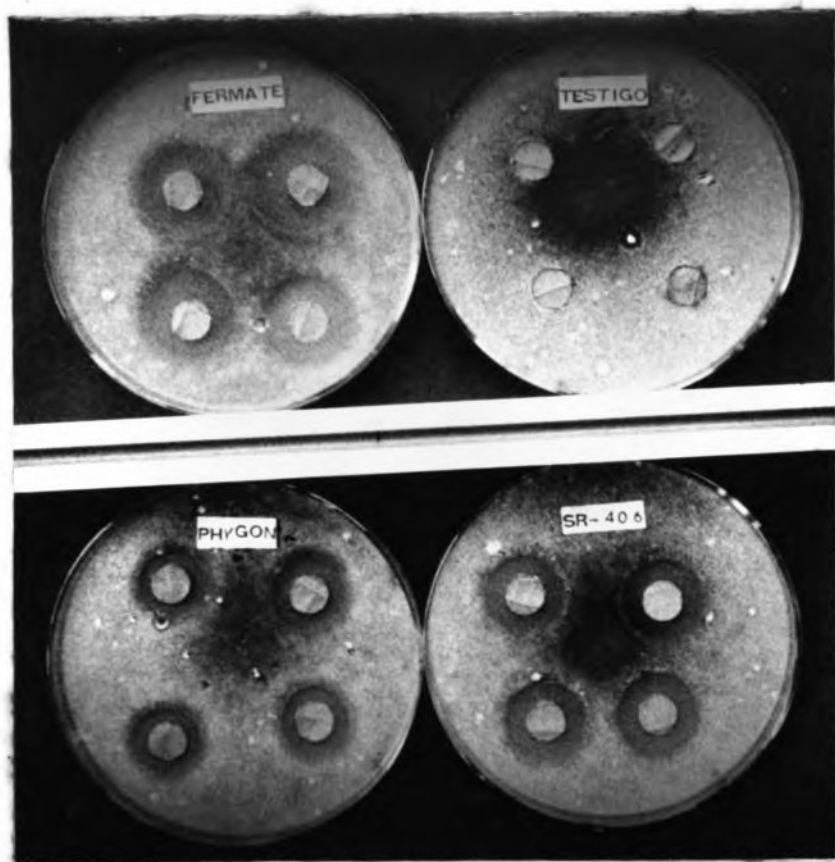


FIGURA 5. Zonas de inhibición producidas sobre Helminthosporium oryzae por discos de hojas deintitas de cacao atomizadas con late, Phygón y SR-406, comparadas con el testigo no tratado.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en las pruebas preliminares conducidas en este trabajo (tabla 6, gráficos 1 y 2), mostraron que el área de la zona de inhibición producida sobre los platos de cultivo de Helminthosporium oryzae por discos de hojas de cacao y frijol atomizadas con SR-406 está relacionada con la concentración del fungicida. De esta forma, quedó probado que el método bioanalítico desarrollado es capaz de medir, por comparación relativa, el residuo de SR-406 depositado sobre hojas tratadas con el fungicida a concentraciones variando de 0.5 a 6.0 libras por 100 galones.

El método demostró ser promisor para la evaluación comparativa de adherentes agregados al SR-406, una vez que los resultados de los ensayos realizados con C-Oil 156, P.E.P.S. y Armour Sticker (tabla 6, gráfico 3) fueron semejantes a aquellos obtenidos en los experimentos de campo realizados bajo las condiciones de Cartago y Turrialba (tablas 1, 3 y 5).

Es posible que el método se aplique a la evaluación de adherentes agregados a Fermate, Karbam Black, Phygon, Bioquin¹ y Zerlate.

SUMARIO

1. Se condujeron pruebas preliminares de campo para la evaluación de 14 diferentes adherentes agregados al SR-406. La evaluación se basó en el control de Phytophthora infestans en cultivos de papas y tomates y de Cercospora coffeicola y Colletotrichum coffeanum en almácigo de café. Entre todos los adherentes ensayados, solamente C-011 156 y P.E.P.S. se mostraron promisoros.

C-011 156 y P.E.P.S. agregados al SR-406 a la concentración de 1.5 pinta por 100 galones se mostraron más efectivos que a la concentración de 0.5 pinta por 100 galones.

2. Un método bioanalítico fué desarrollado y demostró ser promisor para la evaluación comparativa de adherentes agregados al SR-406. El método consistió en atomizar plantitas de cacao con el fungicida sólo y en mezcla con 3 adherentes. Muestras de discos de hojas de cada tratamiento fueron recogidas 3 horas, 5 días y 13 días después de las aplicaciones, cuando las plantitas habían recibido 0.0, 2.11 y 2.45 pulgadas de lluvia, respectivamente. Los residuos del fungicida retenidos en sus superficies fueron determinados por comparación relativa de las áreas de la zona de inhibición producidas sobre platos de cultivos de Helminthosporium oryzae. Los resultados logrados en la evaluación bioanalítica concordaron estrechamente con las informaciones obtenidas en las pruebas de campo.

3. El autor sugiere la posibilidad de emplear el método bioanalítico para evaluar adherentes con otros fungicidas, tales como Fermate, Karbam Black, Phygon, Bioquin 1 y Zerlate.

SUMMARY

1. Preliminary field tests were conducted to evaluate 14 stickers with SR-406. The evaluation was based on control of Phytophthora infestans on potatoes and tomatoes and of Colletotrichum coffeanum and Cercospora coffeicola on coffee seedlings. Among the stickers tested, only C-011 156 and P.E.P.S. showed promise. These two stickers were more effective at 1.5 pints than at 0.5 pints per 100 gallons of spray mixture with SR-406.

2. A bio-assay method was developed, which demonstrated promise for the comparative evaluation of stickers with SR-406.

Small cacao plants were carefully sprayed with SR-406 alone and as mixtures with 3 stickers. Leaf disks from each treatment were collected 3 hours, 5 days and 13 days after application and after the plants had received 0.0, 2.11 and 2.45 inches of rain respectively. The relative amounts of fungicide retained on the surface of the leaves were determined by the area of the zone of inhibited growth of Helminthosporium oryzae. The results obtained by the bio-assay method were similar to those obtained in the field tests.

3. The author suggests the possibilities for the use of the bio-assay method for testing stickers with other fungicides, including Fermate, Karbam, Phygon, Bioquin 1 and Zerlate.

LITERATURA CITADA

1. American Phytopathological Society. Committee on the Coordination of Field Tests with New Fungicidal Sprays and Dusts. Second annual report, with reference to the results obtained in 1948. Plant Disease Reporter Supplement 183:111-177. 1949.
2. _____ Fungicide Committee. Nation-wide results with fungicides in 1948, fourth annual report. Plant Disease Reporter Supplement 181:17-87. 1949.
3. _____ Fungicide Committee. Nation-wide results with fungicides in 1949, fifth annual report. Plant Disease Reporter Supplement 192:120-187. 1950.
4. Andrade, A. C. Fungicidas modernos para controlar a requeima do tomateiro. O Biologico 18(1):6-14. 1952.
5. Chester, K. Starr. Plant disease losses: their appraisal and interpretation. Plant Disease Reporter Supplement 193:190-362. 1950.
6. Fernández Valiela, Manuel V. Introducción a la fitopatología. 2a. ed. Buenos Aires, Talleres Gráficos "Gadola", 1952. 872 p.
7. Frear, D. E. H. et al, eds. Pesticide handbook. 4th ed. State College, Pa., College Science Publishers, 1952. 176 p.
8. Hansberry, Roy. Desarrollo reciente de la química agrícola. Turrialba 2(3):92-98. 1952.
9. Horsfall, James G. Fungicides and their action. Waltham, Mass., Chronica Botanica Co., 1945. 239 p. (Annales Cryptogamici et Phytopathologici, Vol. 2).
10. Hough, Walter S. & Mason, A. Freeman. Spraying, dusting and fumigating of plants, principles and applications. Revised. New York, Macmillan Co., 1951. 726 p.
11. Leben, Curt & Keitt, G. W. Laboratory and greenhouse studies of antimycin preparations as protectant fungicides. Phytopathology 39(7):529-540. 1949.
12. Loo, Y. H. et al. Assay of streptomycin by the paper-disc plate method. Journal of Bacteriology 50(6):701-709. 1945.

13. McCallan, S. E. A. Outstanding diseases of agricultural crops and uses of fungicides in the United States. Boyce Thompson Institute. Contributions 14(3):105-115. 1946.
14. Riker, A. J. & Riker, Regina S. Introduction to research on plant diseases; a guide to the principles and practice for studying various plant-disease problems. St. Louis, Mo., John S. Swift Co., 1936. 117 p.
- ✓ 15. Roberts, John W. Recent developments in fungicides. II. Spray materials - 1936-1944. Botanical Review 12(9):538-547. 1946.
16. Siller F., Luis R. Evaluación de fungicidas por medio de pruebas selectivas para el control del Phytophthora palmivora Butl. sobre Theobroma cacao L. Tesis sin publicar. Turrialba, C. R., Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, 1951. 56 p.
17. Thornberry, H. H. A paper-disk plate method for the quantitative evaluation of fungicides and bactericides. Phytopathology 40(5):419-429. 1950
18. Yowell, H. L. Información personal. Standard Oil Development Co., Linden, New Jersey. 1952.