

ENSAYOS CON FUNGICIDAS SOBRE DOS ESPECIES DE *ASPERGILLUS* AISLADAS DE FIBRAS DE ABACÁ (*MUSA TEXTILIS* NÉE)

YOLANDA VÁZQUEZ E. TOPETE *

MARTHA ZENTENO-ZEVADA **

RESUMEN

De fibras de abacá dañadas en el almacén, fueron aisladas tres cepas de hongos del grupo *Aspergillus glaucus*, una de *A. ruber* y dos de *A. chevalieri*, en las que se probó la acción de quince fungicidas, a cuatro concentraciones diferentes, utilizando la técnica de "discos de papel", para determinar la concentración mínima de un fungicida capaz de inhibir la germinación de las esporas de los hongos, en condiciones de laboratorio. También se hicieron pruebas sobre fibras de abacá. Las tres cepas de *Aspergillus* probadas, tuvieron distinto comportamiento frente a los fungicidas y a las concentraciones usadas. Tanto en las pruebas de discos como en las de fibra, Acti-dione fue el fungicida más efectivo y actuó de igual manera sobre los tres aislamientos a una concentración mínima de 300 ppm, al igual que el Caldo Bordelés en la fórmula más baja usada de 2:3.5:100. Arasán, Maneb, Manzate, Melprex, Panoram y Parzate, impidieron el crecimiento de los tres aislamientos, pero a concentraciones diferentes.

ABSTRACT

Three strains, one of *Aspergillus ruber* and two of *A. chevalieri* which belong to the *A. glaucus* group, were isolated from damaged stored "abaca" fibers. Fifteen fungicides were tested against these isolates using the "paper discs" technique to find out the minimum concentration able to inhibit the spore germination of these fungi. The test were also made on "abaca" fibers.

The three *Aspergillus* strains had a different response to the fungicides and doses. In both type of tests, either paper discs or fibers, Acti-dione was the fungicide which gave the best results and the action was the same for all three strains with a minimum concentration of 300 ppm; similar results were obtained with Bordeaux Mixture in the lowest formula used 2:3.5:100. Arasau, Maneb, Manzate, Melprex, Panoram y Parzate, prevented the growth of the three isolations but at different concentration each one.

INTRODUCCIÓN

El abacá (*Musa textilis*) es una planta originaria de las Islas Filipinas que recibe los nombres de "Cañamo de Manila", "Cañamo de China", "Cañamo de Amboino", "Manila Hemp", "Plátano",

"Banano", entre otros, y que también se aplican a la fibra textil que se extrae de ella. Debido a la baja demanda de fibra en el mercado mundial y nacional en esta época, ha sido necesario al-

* Parte de la tesis presentada para obtener el título de Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM.

** Instituto de Biología, UNAM.

macenarla en las bodegas de la planta de beneficio de la Impulsadora y Exportadora Nacional, S. de R. L. de C. V., y en las de Almacenes Nacionales de Depósito, S. A. (ANDSA) de Teapa, Tabasco. En el almacén se observó que la fibra perdía sus características, se hacía quebradiza, opaca, y presentaba zonas con coloraciones grisáceas, morenas, rojizas y amarillentas (Zenteno, 1966); algunas de estas características las describe Serrano (1927) en fibras de abacá deterioradas. En dichas condiciones la fibra no puede utilizarse como materia prima en la fabricación de cables de uso ma-

rino, redes de pesca y artículos diversos como tela, zapatos, bolsas, etcétera (Bangham, 1947).

Dada la importancia del abacá como fibra textil, se realizó este trabajo preliminar, con el objeto de aislar los hongos que posiblemente ocasionaban el daño observado en las fibras almacenadas, probar la acción de quince fungicidas sobre dichos hongos en condiciones de laboratorio, y obtener datos que se puedan utilizar en futuras investigaciones, bajo condiciones controladas representativas de las encontradas en los almacenes, como humedad y temperatura.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las fibras fueron proporcionadas por la compañía IMPEXNAL de Teapa, Tab., por intermedio del licenciado Luis Zenteno Z.; los fungicidas, por la casa comercial Geigy Mexicana, S. A. de C. V., y por el Laboratorio de Fitopatología del Colegio de Postgraduados de la Escuela Nacional de Agricultura de Chapingo, por conducto del doctor Jorge Galindo.

Para iniciar el estudio, fueron separadas tres muestras de fibras que presentaban distintas coloraciones: grisácea, rojiza y morena amarillenta. De cada muestra se cortaron porciones manchadas, aproximadamente de un centímetro de longitud.

Utilizando la técnica de Christensen (1957) para aislar a los "hongos de almacén", se prepararon cajas de Petri con malta-sal-agar, MSA (2%, 1% y 2%, respectivamente). Una vez solidificado el medio y en condiciones estériles, se colocaron pequeñas porciones de la muestra en tres sitios distintos. Las fibras no se desinfectaron debido a que la desinfección superficial en las pruebas preliminares produjo inhibición en el desarrollo de las colonias de hongos. Con las tres muestras se procedió de

igual manera, las cajas de Petri se mantuvieron a temperatura constante de 27° C durante dos semanas. En este primer aislamiento se obtuvieron varias colonias mezcladas, de las que se aislaron después cultivos puros que fueron conservados en tubos de cultivo con papa-dextrosa-agar (PDA) Difco.

Debido a que la naturaleza y composición del sustrato influyen en las características morfológicas de los hongos, en la identificación de las especies se utilizó como medio de cultivo Czapek-Agar con 20% de sacarosa, que permite la producción de estructuras que facilitan su identificación (Raper y Fennell, 1965), como son los cleistotecios, las ascas y las ascosporas.

La técnica que se utilizó en el presente trabajo fue la de "discos de papel" (Sharville, 1961), que permite observar claramente la acción del fungicida (Fig. 1) sobre el desarrollo del hongo y determinar cuál es la concentración mínima capaz de inhibir su crecimiento.

Las cajas de Petri así preparadas, fueron incubadas a 27° C y se revisaron cada 48 horas en cuatro ocasiones consecutivas anotando un signo positivo (+) en las cajas en donde hubo cre-

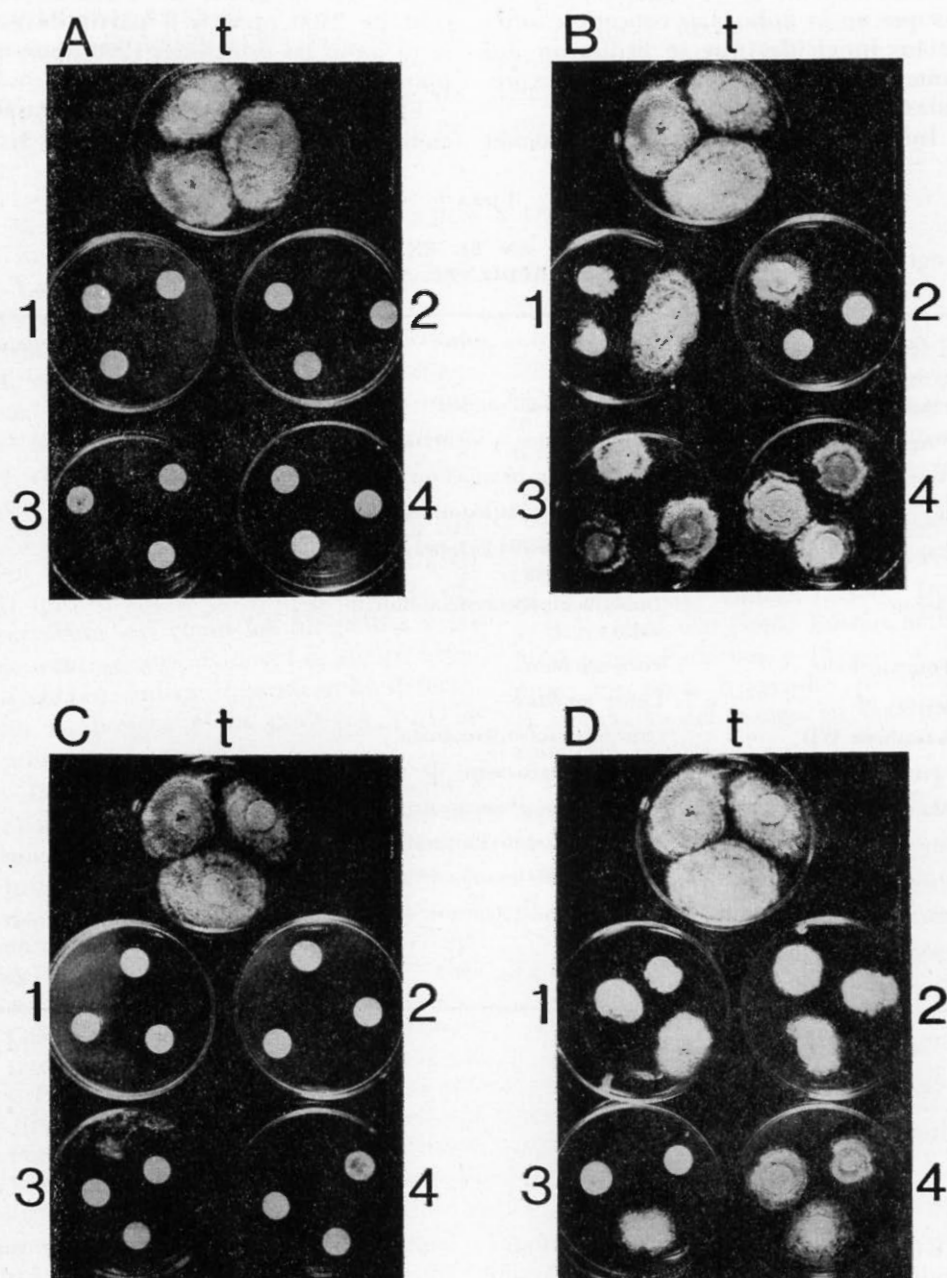


Fig. 1. Acción de los fungicidas Acti-dione (A), Agrimycin (B), Arasán (C) y Botrán (D), sobre el crecimiento de *A. ruber*, a los ocho días de iniciada la prueba. Concentraciones: 1) 2400 ppm, 2) 1200 ppm, 3) 600 ppm, 4) 300 ppm, t) testigo.

cimiento del hongo y negativo (—) en las que no lo hubo. Las concentraciones de los fungicidas que se utilizaron durante todo el experimento están expresadas en partes por millón (ppm).

Inicialmente se preparó una solución

madre del fungicida a una concentración de 2400 ppm, y a partir de ésta, se hicieron las diluciones 1200 ppm, 600 ppm y 300 ppm.

El Caldo Bordelés se usó en las proporciones que aparecen en la Tabla 1.

TABLA 1
FUNGICIDAS UTILIZADOS EN EL EXPERIMENTO, PORCENTAJE
E INGREDIENTE ACTIVO

<i>Fungicida</i>	<i>Ingrediente Activo</i>	<i>Porcentaje</i>
* Acti-dione	Tiurameciclohexamida	75
* Agrinycin 100	Estreptomycina y oxitetraciclina	16.5
Arasán 75	Bisulfuro de tretameltiuram	75
Botrán 50W	2,6 Dicloro-4 nitroanilina	50
Captán	N-triclorometil-4-ciclohexano 1,2 dicarboximida	50
Dexón	Dimetilaminobencendiazosulfato de sodio	70
Formaldehido	Formaldehido	37
Gycop 53	Cobre metálico	53.3
Karathane WD	Caprildinitrofenilcrotonato	25
Maneb 70	Etilenditiocarbamato de manganeso	70
Manzate D	Etilenbisdiocarbamato de manganeso	80
Melprex 65W	Acetato de dodecilguanidina	65
Panoram D	Bisulfuro de tetrametiltiuram	75
Parzate C	Etilenbisdiocarbamato de zinc	65
Caldo Bordelés	Sulfato de cobre (A), cal (B) y agua (C)	++

* Antibióticos

++ Partes de: A : B : C
 1. 16 : 30 : 100
 2. 8 : 15 : 100
 3. 4 : 7.5 : 100
 4. 2 : 3.5 : 100

Una vez conocidas las concentraciones mínimas en que los fungicidas inhibieron el desarrollo de los hongos en las pruebas de "discos de papel", éstas fueron usadas en las pruebas preliminares sobre las fibras de abacá. Para ello se utilizaron fibras sanas, que fueron in-

troducidas en tubos de cultivo y esterilizadas al autoclave; después se añadió a cada tubo una gota de la suspensión de esporas del hongo en prueba, la que fue preparada añadiendo pequeñas cantidades de agua destilada estéril al tubo con el cultivo y raspando la superficie

del micelio con un sembrador. En seguida fueron agregadas a las fibras unas gotas de la solución del fungicida en ensayo; los tubos fueron incubados a 30° C durante 15 días; en los testigos sólo fue agregada la suspensión de es-

poras sin fungicida. En esta prueba no se tomó en cuenta la humedad inicial de las fibras, ni la que alcanzaron al agregarles la suspensión de esporas, y tampoco fue controlada la humedad relativa dentro de los tubos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tres aislamientos de hongos obtenidos fueron identificados, uno, como *Aspergillus ruber* y los otros dos como *A. chevalieri*, ambos del grupo *A. glaucus* (Raper y Fennell, 1965); una cepa de la especie *A. chevalieri* fue designada *A. chevalieri 1* y la otra *A. chevalieri 2*, para distinguirlas.

Los resultados de las pruebas en discos de papel aparecen en la Tabla 2 en la que se anota el tiempo final de observación, así como los fungicidas y las concentraciones usadas. Los signos negativos (—) indican que no hubo desarrollo de hongos y los positivos (+) la presencia de micelio.

Desde el cuarto día se empezaron a observar diferencias en el desarrollo del micelio con los distintos fungicidas. Las pruebas duraron 8 días, y al cabo de ese tiempo se pudo observar sobre *A. chevalieri 1* la inhibición del desarrollo del hongo a diferentes concentraciones; Acti-dione, Arasán, Maneb, Melprex y Caldo Bordelés, actuaron en la concentración más baja utilizada; Agri-Mycin y Botran a 2400 ppm, que fue la más alta concentración; Captán, Manzate, Panoram y Parzate a 600 ppm; Dexón, Formaldehído, Gycop y Karathane no

impidieron el crecimiento del hongo en las concentraciones aquí aplicadas.

En la Tabla 2 también aparecen los resultados obtenidos con los mismos fungicidas en *A. chevalieri 2*. Igual que en caso del aislamiento citado arriba, al cuarto día comienzan los resultados; al final de las pruebas, Acti-dione, Arasán, Captán, Maneb y Manzate inhibieron el crecimiento del hongo a una concentración de 300 ppm y el Caldo Bordelés en la más baja concentración; Dexón y Melprex a 600 ppm; Botrán actuó a 2400 ppm; Panoram y Parzate a 1200 ppm; los otros fungicidas permitieron el desarrollo del hongo en las concentraciones usadas.

Por la acción de los fungicidas en la especie *A. ruber*, como en los dos aislamientos anteriores, se observan diferencias desde el cuarto día de prueba; al final, o sea a los 8 días (Tabla 2), los fungicidas Acti-dione, Arasán, Manzate, Melprex y Panoram en la concentración de 300 ppm y el Caldo Bordelés con la fórmula 2:3.5:100 y Dexón, Maneb y Parzate a 1200 ppm no permitieron crecimiento fungoso; los demás fungicidas no inhibieron el desarrollo del hongo en las concentraciones aquí empleadas.

TABLA 2

ACCIÓN DE LOS FUNGICIDAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE LOS TRES *ASPERGILLUS*, EN LA PRUEBA DE DISCOS DE PAPEL, CON DIFERENTES CONCENTRACIONES, A 27°C Y A LOS 8 DÍAS. EL SIGNO (+) INDICA QUE HUBO CRECIMIENTO DEL HONGO Y EL NEGATIVO (-) QUE NO HUBO CRECIMIENTO

Fungicida	<i>A. chevalieri 1</i>					<i>A. chevalieri 2</i>					<i>A. ruber</i>				
	Concentración (ppm)					Concentración (ppm)					Concentración (ppm)				
	2400	1200	600	300	testigo	2400	1200	600	300	testigo	2400	1200	600	300	testigo
Acti-dione	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Agri-mycin	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Arasán	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Botrán	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Captán	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
Dexón	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
Formaldehído	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Gycop	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Karathane	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Maneb	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Manzate	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Melprex	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
Pauorani	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
Parzate	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+
• Caldo	(1)	(2)	(3)	(4)											
Bordelés	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+

• Fórmulas empleadas (concentraciones)

(1) 16:30:100 (3) 4:7.5:100

(2) 8:15:100 (4) 2:3.5:100

En las pruebas sobre fibras sanas de abacá, se usaron los fungicidas en las concentraciones mínimas que no permitieron el desarrollo de los hongos en los ensayos de discos de papel; en aquellos casos en que el micelio creció en todas las proporciones del fungicida, se utilizó la mayor de éstas (Tabla 3).

TABLA 3

CONCENTRACIÓN EN QUE LOS FUNGICIDAS INHIBIERON EL CRECIMIENTO DE LOS TRES *ASPERGILLUS*, 8 DÍAS A 27°C, EN LAS PRUEBAS DE DISCOS DE PAPEL

Fungicida	<i>A. chevalieri</i> 1	<i>A. chevalieri</i> 2	<i>A. ruber</i>
Acti-dione	300 ppm	300 ppm	300 ppm
Agrimycin 100	2400 ppm	+	+
Arasán 75	300 ppm	300 ppm	300 ppm
Botrán 50W	2400 ppm	2400 ppm	+
Captán 50	600 ppm	300 ppm	+
Dexón	+	600 ppm	1200 ppm
Formaldehido	+	+	+
Gycop 53	+	+	+
Karathane WD	+	+	+
Maneb 70	300 ppm	300 ppm	1200 ppm
Manzate D	600 ppm	300 ppm	300 ppm
Melprex 65W	300 ppm	600 ppm	300 ppm
Panoram D	600 ppm	1200 ppm	300 ppm
Parzate C	600 ppm	1200 ppm	1200 ppm
Caldo Bordelés	2:3.5:100	2:3.5:100	2:3.5:100
Testigo	+	+	+

+ Hubo crecimiento del hongo en la máxima concentración del fungicida (2400 ppm).

En la Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos en dichas pruebas sobre fibras de abacá, en las que fue empleada una temperatura de 30° C debido a que las zonas donde se cultiva y almacena el abacá son de clima cálido; el tiempo de la prueba fue de 15 días porque al cabo de ese tiempo el daño sobre las fibras era muy notable, aunque se comenzó a observar una semana después de iniciado el experimento. No se desarrolló ninguno de los tres hongos en

los tratamientos con acti-dione, Arasán, Maneb, Manzate, Melprex, Panoram, Parzate y Caldo Bordelés. La Agrimicina impidió el crecimiento de *A. chevalieri* 1; Botrán y Captán actuaron solamente sobre *A. chevalieri* 1 y *A. chevalieri* 2 y Dexón sobre *A. chevalieri* 2 y *A. ruber*.

Las otras sustancias, o sea Formaldehido, Gycop y Karathane, permitieron la formación de micelio de los tres *Aspergillus*.

TABLA 4

INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE LOS HONGOS INOCULADOS EN FIBRAS DE ABACÁ SANAS, UTILIZANDO LOS FUNGICIDAS EN LAS CONCENTRACIONES INDICADAS EN LA TABLA 3 POR 15 DÍAS A 30°C

Fungicida	<i>A. chevalieri</i> 1	<i>A. chevalieri</i> 2	<i>A. ruber</i>
Testigo	+	+	+
Acti-dione	-	-	-
Agrimycin 100	-	+	+
Arasán 75	-	-	-
Botrán 50W	-	-	+
Captán 50	-	-	+
Dexón	+	-	-
Formaldehido	+	+	+
Gycop 53	+	+	+
Karathane WD	+	+	+
Maneb 70	-	-	-
Manzate D	-	-	-
Melprex 65W	-	-	-
Panoram D	-	-	-
Parzate C	-	-	-
Caldo Bordelés	-	-	-

+ Hubo crecimiento

- No hubo crecimiento

Al comparar estos resultados con los obtenidos en las pruebas de discos de papel (Tabla 3), se podrá notar que, aunque son muy semejantes, tienen también diferencias. En los dos tipos de ensayos Acti-dione y Caldo Bordelés, en las concentraciones mínimas usadas, impidieron el desarrollo de los tres hongos; Arasán, Maneb, Manzate, Melprex, Panoram y Parzate, actuaron en diferentes concentraciones, evitando la formación de micelio en los tres hongos. Los otros fungicidas se comportaron de manera distinta en los dos tipos de pruebas. En los testigos fue muy patente el daño en las fibras, haciéndose éstas quebradizas y con manchas de varias tonalidades, tal como sucedía en los almace-

nes. Los tres hongos fueron fácilmente reaislados de estas fibras.

Por los resultados obtenidos en el presente trabajo, parece posible determinar el comportamiento de los fungicidas en fibras de abacá en el almacén, con una técnica sencilla de laboratorio, como es la de discos de papel. También sería conveniente hacer pruebas de almacenamiento de las fibras en condiciones controladas, principalmente de humedad y temperatura, y verificar si los resultados tienen correlación con las pruebas de laboratorio. Es probable además, que la misma técnica sirva para otros productos almacenados, siempre que éstos no se vayan a utilizar en la alimentación, o bien que como fungicidas se empleen sustancias inocuas.

LITERATURA

- BANGHAM, W. N., 1947. El abacá presente y futuro. *Hacienda* 42: 46-49.
- CHRISTENSEN, C. M., 1957. Deterioration of stored grains by fungi. *Bot. Rev.* 23: 108-134.
- RAPER, K. B. y D. I. FENNELL, 1965. *The genus Aspergillus*. Williams y Wilkins, Baltimore.
- SERRANO, F. B., 1927. Deterioration of abaca (Manila Hemp) fiber through mold action. *Philipp. J. Sci.* 32: 75-101.
- SHARVELLE, E. G., 1961. *The nature and uses of modern fungicides*. Burgess, Minneapolis.
- ZENTENO, L., 1966. *El plan abacá*. Tesis Profesional, Instituto Tecnológico Autónomo de México.