

Identificación y control de *Ulocladium cucurbitae*, agente causal de la picada negra del zapallo de guarda (*Cucurbita maxima*)

J. Auger¹, M. Esterio y L. Meza

Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas
Universidad de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile

Abstract

J. Auger, M. Esterio and L. Meza. 2006. Identification and control of *Ulocladium cucurbitae*, causal agent of black rot of pumpkin (*Cucurbita maxima*). Cien. Inv. Agr. 33(1): 29 - 36. The aim of this study was to identify the causal agent of a postharvest black rot of pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.), commonly known as *picada negra* in Chile and to evaluate the efficacy of chemical control alternatives. Based on morphological characteristics and temperature response, the causal agent of black rot was identified as *Ulocladium cucurbitae* (Letendre and Roum.) Simmons. This fungus was consistently obtained through repeated isolations made from disease fruits and it was subsequently reisolated from healthy fruits that were artificially inoculated with isolates of *U. cucurbitae*. The following fungicides and fungicide mixtures were evaluated to control *U. cucurbitae* *in vitro* and *in vivo*: iprodione, prochloraz-carbendazim, epoxiconazole-kresoxim methyl, iprodione-bromuconazole, folpet, metconazole, chlorothalonil, mancozeb, imazalil and benomyl. Metconazole, imazalil and prochloraz-carbendazim were the most effective fungicides to inhibit mycelial growth of *U. cucurbitae* *in vitro* and were selected for further studies. Using these fungicides, an *in vivo* trial was performed on pumpkin fruit pieces, inoculated with *U. cucurbitae* before and after fungicide treatments. The mixture of prochloraz+carbendazim ($300 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + 80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, Sportak Alpha SC), at the rate of $0.042 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, provided the best control. Infection was favored by the presence of wounds in the fruits.

Key words: *Cucurbita maxima*, *picada negra*, postharvest diseases, squash, *Ulocladium cucurbitae*, vegetable diseases.

Introducción

Actualmente se cultivan aproximadamente 4.700 ha anuales con zapallo de guarda (*Cucurbita maxima* Duch), principalmente en la Región Metropolitana y VI Región de Chile (INE, 1997). Después de la cosecha (marzo-abril), la mayor parte de la producción se almacena por varios meses en bodegas acondicionadas de los productores y en centros de acopio de agentes comercializadores mayoristas. Estos últimos compran y almacenan zapallos, regulando la oferta en relación con los pronósticos de precios. Sin embargo, se estima que entre el 40 y el 50% del total de los zapallos no finalizan la guarda.

La pudrición negra, comúnmente denominada *picada negra* en Chile, es el principal factor del deterioro del zapallo que reduce la vida de postcosecha del zapallo (Arriagada, 1973; Monardes, 1977).

El daño de la *picada negra* se manifiesta inicialmente con una pudrición superficial. Posteriormente con un picado o mancha negra que profundiza comprometiendo internamente el fruto (Figura 1). Esta enfermedad se manifiesta en los meses más fríos (julio-agosto), siendo muy importante después de 100 a 120 días de almacenaje. Los síntomas consisten en una pudrición seca, localizada, circular, de 3-6 cm de diámetro y color verde oliva. Bajo ésta, se forma una depresión corchosa de 1-1,5 cm de profundidad (Bacchelli, 1986; Arriagada, 1973; Monardes, 1977). De acuerdo con

antecedentes recopilados por Baccelliere (1986), temperaturas inferiores a 9 °C provocan daños por frío en el fruto, favoreciendo la susceptibilidad a pudriciones. Por otra parte, temperaturas superiores a 15 °C favorecen el desarrollo de esta y otras enfermedades en postcosecha, y al mismo tiempo aceleran los procesos metabólicos, produciendo una mayor pérdida de peso (Paredes, 1975).

Especies de los géneros *Alternaria*, *Stemphylium* y *Ulocladium* se encuentran entre los posibles hongos causales de pudriciones en cucurbitáceas durante la poscosecha. De acuerdo con Simmons (1967) existen algunas características compartidas entre especies de *Alternaria*, *Stemphylium* y *Ulocladium*.

Por ejemplo, producen dictiosporas ovoides sobre conidióforos rugosos y bien diferenciados. Leach y Aragaki (1970) describieron al patógeno causante de pudriciones en poscosecha en cucurbitáceas, considerando criterios morfológicos de las conidias y conidióforos tales como forma, color, tamaño y ornamentación de las conidias. De acuerdo con

estos autores, la expresión de estos caracteres depende del medio ambiente. Específicamente de la luz, temperatura, nutrientes y pH. Estos cambios ocurrirían entre 12 y 32°C, afectando la morfología y la pigmentación de las conidias. Es así que a 11,5 °C se desarrolla una conidia del tipo *Alternaria*, y a 21 °C la colonia produce conidias verrugosas y micelio pardo oscuro correspondiente al género *Ulocladium*.

Según Zitter (1992), especies del género *Ulocladium* se han descrito como patógenas en cultivos de pepino en Checoslovaquia y esporádicamente cultivos en invernadero en Inglaterra. Resultados de inoculaciones realizados por Zitter y Hsu (1990) permitieron concluir que *U. cucurbitae* es el organismo causal de las pudriciones en poscosecha en cucurbitáceas. Estos investigadores demostraron que dependiendo de las condiciones ambientales, *U. cucurbitae* fue el único hongo con conidias morfológicamente intermedias entre los géneros *Ulocladium* y *Alternaria*. Este patógeno indujo una pudrición verde oliva, de consistencia seca y corchosa, la que profundizó comprometiendo internamente el centro de los frutos.

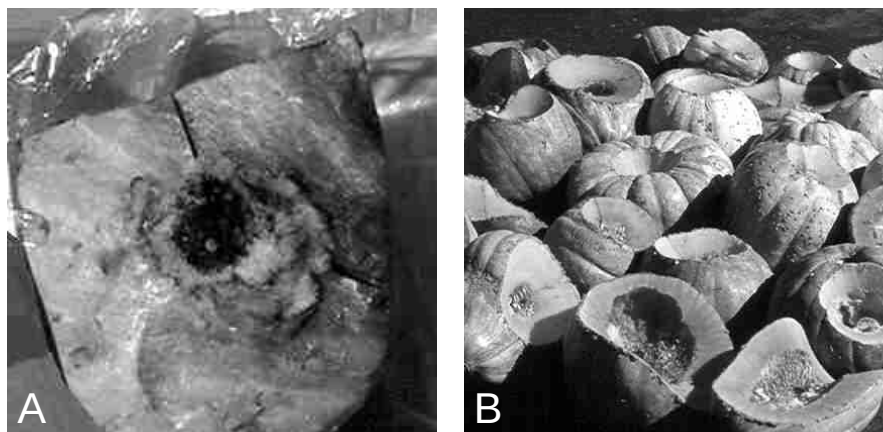


Figura 1. Síntoma de “picada negra” en zapallo de guarda causada por *Ulocladium cucurbitae*. A. Lesión superficial de 3-6 cm de diámetro y color verde oliva desarrollada en frutos de zapallo de guarda. B. Frutos de zapallo de guarda parcialmente dañados por la “picada negra”. Los tejidos enfermos fueron removidos.

Figure 1. Picada Negra symptoms in pumpkin caused by *Ulocladium cucurbitae*. A) Olive-green, 3-6 cm diameter lesion in pumpkin fruit. B) Stored pumpkin partially damage with Picada Negra. Rot tissue was removed.

De acuerdo con Apablaza (1975) las pudriciones de los frutos del zapallo de guarda en almacenaje son causadas principalmente por hongos presentes

en el campo. Estos penetran a medida que el fruto madura, o bien permanecen superficialmente en el fruto, produciéndose la infección al ocurrir

algún daño mecánico. *Ulocaldium cucurbitae* sobrevive y se disemina como esporas de resistencia en residuos de plantas infectadas por más de un año (Zitter, 1996).

Con respecto al hongo asociado a la “picada negra” en Chile, Arraigada (1973) y Paredes (1975) indicaron que *Alternaria tenuis* fue uno de los hongos más comunes que se presentaron en almacenaje de zapallo de guarda afectados por esta enfermedad. Los frutos desarrollaron manchas secas, circulares, color verde oliva y una depresión corchosa de 1 a 1,5 cm de profundidad en los frutos afectados.

Los objetivos de la presente investigación fueron: 1. Aislar, identificar y determinar mediante pruebas de patogenicidad el agente causal de la “picada negra” de los zapallos de guarda en poscosecha, y 2. Evaluar posibles alternativas de control mediante el uso de fungicidas específicos.

Materiales y métodos

Determinación del agente causal

Los aislamientos se realizaron desde muestras de tejidos enfermos de frutos de zapallo de guarda con “picada negra”. Estas muestras de tejidos se desinfectaron superficialmente (etanol al 70%, 3 min; NaOCl al 2%, 1 min) y se lavaron en agua destilada estéril. Dos pequeños trozos, seleccionados de la zona de avance de la lesión, se sembraron en placas de Petri con medio agar papa dextrosa (APD). Los cultivos se incubaron a 21 °C por 6 días.

La patogenicidad de cultivos monospóricos del hongo aislado, se determinó en trozos sanos de frutos de zapallo, de aproximadamente 20x10 cm. Los trozos inoculados se mantuvieron en cámara húmeda a temperatura ambiente (18-20 °C) durante 14 días. Finalmente y una vez que se manifestó el daño en los tejidos inoculados, se aisló en APD el hongo inicialmente inoculado.

Identificación del hongo asociado a la picada negra

La identificación del hongo aislado se realizó según los criterios taxonómicos propuestos por Simmons (1967 y 1998), considerando las

referencias sobre dimorfismo conidial que manifiesta *U. cucurbitae* a 8 y 21 °C (Leach y Aragaki, 1970) y atendiendo a la clasificación realizada por Zitter y Hsu (1990).

Pruebas fungicidas

Ensayos in vitro. Con el propósito de determinar la sensibilidad del hongo causante de la “picada negra” frente a la acción de diferentes fungicidas, se utilizó el método de Sakamoto (1986), el cual evaluó el crecimiento diferenciado *in vitro* de aislados en relación con distintas concentraciones de productos fungitóxicos. Para esto, discos invertidos con crecimiento miceliar se sembraron en placas Petri de 9 cm de diámetro, con medio APD enmendadas con 0, 1, 2, 6, 8 y 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de ingrediente activo de los fungicidas iprodione (500 $\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$, Rovral WP), prochloraz-carbendazim (300 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ -80 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, Sportak Alpha SC), iprodione-bromuconazole (266 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ -133 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, Brodione SC), folpet (500 $\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$, Folpan WP), metconazole (90 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, Caramba SL), chlorothalonil (720 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, Bravo SC), mancozeb (80 $\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$, Mancozeb WP), imazalil (500 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, Fungaflor EC), epoxiconazole-krexoxim methyl (125 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ -125 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, Juwel SC) y benomyl (500 $\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ Benlate WP) (Butler *et al.*, 1979; Zitter y Hsu, 1990).

En un segundo ensayo *in vitro* se emplearon los tres fungicidas más efectivos en las concentraciones indicadas en paréntesis, obtenidas a partir de los productos formulados antes mencionados: prochloraz-carbendazim (0; 0,025; 0,03125; 0,0625; 0,125 y 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), imazalil (0; 0,2; 0,3; 0,5; 0,7 y 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) y metconazole (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Al sexto día de incubación a 21 °C se midió el crecimiento radial del micelio.

Ensayo in vivo. Se utilizaron trozos de zapallo de guarda de aproximadamente 20x10 cm con y sin heridas. Los trozos de zapallo se lavaron con agua potable, se desinfectaron superficialmente con etanol al 70% por 3 min, hipoclorito de sodio al 2% por 1 min y se enjuagaron en abundante agua destilada estéril. Los tratamientos se aplicaron de dos formas: 1. Fungicida en contacto con la cutícula del fruto antes de la inoculación con una suspensión

de esporas (2×10^4 conidias·mL⁻¹). 2. Inoculación con una suspensión de esporas antes de la aspersión del fungicida. Los productos utilizados fueron metconazole, imazalil y prochloraz-carbendazim. La concentración a aplicar se determinó según la concentración mediana efectiva (EC₅₀), previamente estimada para cada fungicida. La inoculación se realizó asperjando una suspensión de conidias obtenidas de cultivos puros en APD de 3-4 días de edad. Esta se aplicó sobre la cutícula de frutos heridos y sin herir. Los trozos de zapallo una vez inoculados y tratados se dispusieron en cámaras húmedas a temperatura ambiente (18-20°C), por 14 días.

Análisis estadísticos

Ensayo in vitro. Se basó en un modelo aleatorio con cinco tratamientos correspondiente a las concentraciones para cada fungicida (metconazole, imazalil, prochloraz-carbendazim), con cuatro repeticiones, incluyendo al testigo sin tratar.

La dosis mediana efectiva (EC₅₀) se determinó a través de un análisis de regresión lineal entre el logaritmo de la concentración (X) y el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio (Y). Los porcentajes se transformaron a valores probit, utilizando el programa computacional POLO-PC (LeOra Software, 1987, USA). La efectividad de los fungicidas se comparó estadísticamente ($p \leq 0,05$) empleando SigmaStat 2.0 (Jandel Corporation, 1995, USA).

Ensayo in vivo. Se utilizó un diseño completamente al azar con estructura factorial 3x2x2, conformado por tres fungicidas (metconazole, imazalil y prochloraz-carbendazim), dos formas de aplicación de cada fungicida y la presencia o ausencia de heridas, con seis repeticiones por cada tratamiento. La unidad experimental correspondió a un trozo de zapallo. Los resultados se sometieron a análisis de varianza y los promedios se separaron de acuerdo con la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$) mediante el programa SigmaStat.

Resultados

Prueba de patogenicidad

Desde muestras de frutos de zapallo con síntomas

de “picada negra” se recuperó reiteradamente *U. cucurbitae*. Los aislamientos obtenidos en APD fueron patogénicos en zapallos de guarda, desarrollando una lesión necrótica en la cutícula del fruto y una depresión corchosa. Esta avanzó hacia el interior del zapallo luego de 14 días de incubación a temperatura ambiente (18-20°C). Finalmente, desde frutos artificialmente inoculados, se reisoló *U. cucurbitae*.

Descripción e identificación

El hongo asociado a la “picada negra” en zapallo de guarda obtenido en este estudio, presentó en medio APD un micelio septado oscuro y desarrolló colonias de color verde oliva con márgenes blanquecinos.

A 8 °C produjo conidias rugosas y multicelulares con 6-8 células, de 32,0x13,4 µm. Desarrolló conidióforos erectos, septados y ramificaciones, produciendo conidias solitarias esféricas, alargadas a ovoides, provistas de septos longitudinales y transversales. Las conidias se insertaron en ángulo recto en el conidióforo.

A 21°C, presentó dos tipos de conidias; las primeras ovoides de 12,5x8,6 µm, con 3-5 células y las segundas alargadas de 28,8x13,3 µm, con 6-8 células. Además las colonias en APD presentaron micelio de coloración pardo oscuro, lo que concordó con lo descrito por Leach y Aragaki (1970).

Basado en los criterios propuestos por Simmons (1967 y 1998), la caracterización efectuada por Leach y Aragaki (1970) según la temperatura y según la clasificación de Zitter y Hsu (1990), fue posible identificar el hongo asociado “picada negra” en zapallo de guarda en Chile, como *Ulocladium cucurbitae* (Letendre and Roum.) Simmons.

La descripción de *U. cucurbitae* realizada en este estudio corroboró los resultados obtenidos por Leach y Aragaki (1970), quienes concluyeron que la expresión de los caracteres morfológicos de las conidias (tamaño y número de células de las conidias y coloración del micelio) de este hongo, dependen de la temperatura, variando considerablemente entre 11,5 y 31,5 °C.

Cuadro 1. Efecto de distintas concentraciones de imazalil, metconazole y de la mezcla prochloraz-carbendazim sobre el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de *Ulocladium cucurbitae*.

Table 1. Effect of different concentrations of imazalil, metconazole and the fungicide mixture of prochloraz-carbendazim on the percentage of mycelial growth inhibition of *Ulocladium cucurbitae*.

Concentración ¹ μg·mL ⁻¹	Inhibición del micelio de <i>U. cucurbitae</i> , %		
	Prochloraz-carbendazim	Imazalil	Metconazole
0,0	0,00 a ²	0,00 a ²	0,00 a ²
0,03125	40,05 b		
0,0625	64,39 c		
0,125	61,72 d		
0,20		21,53 b	83,55 b
0,25	77,74 e		
0,30		40,35 c	
0,40			85,23 b
0,5	79,22 f	71,45 d	
0,6			88,36 b
0,70		83,60 e	
0,80			88,64 bc
1,00		100,00 f	90,06 c

¹Concentración de ingrediente activo del fungicida o de la mezcla fungicida empleando los siguientes productos formulados: prochloraz-carbendazim (300 g·L⁻¹-80 g·L⁻¹, Sportak Alpha SC), imazalil (500 g·L⁻¹, Fungaflor EC), metconazole (90 g·L⁻¹, Caramba SL).

Fungicide or fungicide mixture rates, active ingredients, using the following formulated products: prochloraz-carbendazim (300 g·L⁻¹-80 g·L⁻¹, Sportak Alpha SC), imazalil (500 g·L⁻¹, Fungaflor EC), metconazole (90 g·L⁻¹, Caramba SL).

²Promedios seguidos por letras distintas en cada columna indican diferencias significativas según la prueba de comparación múltiple de Duncan ($p \leq 0,05$). Means followed by different letters are statistically different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0,05$).

Efectividad de fungicidas *in vitro*

De acuerdo con los resultados obtenidos, metconazole, imazalil y prochloraz-carbendazim presentaron un alto porcentaje de inhibición del micelio de *U. cucurbitae* (Cuadro 1). Sin embargo, este patógeno fue insensible a la acción de los siguientes fungicidas en las concentraciones estudiadas: benomyl, clorotalonil, mancozeb, epoxiconazole-kresoxim metil, folpet, iprodione e iprodione-bromuconazole. Por esta razón, estos fungicidas no se seleccionaron para los ensayos posteriores. La concentración mediana efectiva (EC_{50}) y la concentración mínima inhibitoria (CMI) calculadas *in vitro* para imazalil, metconazole y la mezcla de

prochloraz y carbendazim se indican en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Concentración mediana efectiva (EC_{50}) y concentración mínima inhibitoria (CMI) de *Ulocladium cucurbitae*, obtenidas *in vitro* con imazalil, metconazole y con la mezcla de prochloraz y carbendazim.

Table 2. Median effective concentrations (EC_{50}) and minimal inhibitory concentration (MIC) obtained *in vitro* for *Ulocladium cucurbitae* with imazalil, metconazole and the mixture of prochloraz and carbendazim.

Fungicidas ¹	EC_{50} , μg·mL ⁻¹	CMI, μg·mL ⁻¹
Metconazole	0,0635	0,6812
Imazalil	0,0880	0,9758
Prochloraz-carbendazim	0,01423	0,5411

¹Metconazole (90 g·L⁻¹, Caramba SL), imazalil (500 g·L⁻¹, Fungaflor EC) y prochloraz-carbendazim (300 g·L⁻¹-80 g·L⁻¹, Sportak Alpha SC).

Metconazole (90 g·L⁻¹, Caramba SL), imazalil (500 g·L⁻¹, Fungaflor EC) and prochloraz-carbendazim (300 g·L⁻¹-80 g·L⁻¹, Sportak Alpha SC).

Prochloraz-carbendazim. Las distintas concentraciones de prochloraz-carbendazim utilizadas *in vitro* mostraron diferencias promedios, estadísticamente significativas. Además, 0,5 μg·mL⁻¹ ejerció un 79% de inhibición en el desarrollo del micelio, y 0,03125 μg·mL⁻¹ inhibió un 40% del desarrollo de *U. cucurbitae*. A medida que incrementó la concentración de prochloraz-carbendazim aumentó la inhibición del micelio *U. cucurbitae*. La pendiente de la curva de inhibición descendió en forma gradual en función del aumento de la concentración de la mezcla fungicida (Figura 2).

Imazalil. Según los resultados que se presentan en el Cuadro 1, las distintas concentraciones de imazalil utilizadas *in vitro* mostraron diferencias estadísticamente significativas. La inhibición del micelio varió entre 21 y 100% con 0,2 y 1,0 μg·mL⁻¹ de imazalil, respectivamente. Al incrementar la concentración de imazalil también se aumentó la inhibición del micelio de *U. cucurbitae*. Además, la curva de inhibición descendió paulatinamente a medida que aumentó la concentración del fungicida (Figura 2).

Metconazole. En el Cuadro 1 se muestra el efecto de las distintas concentraciones de metconazole utilizadas *in vitro*, las que mostraron diferencias significativas con respecto al testigo

sin fungicida. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre 0,2; 0,4; 0,6 y 0,8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Además, 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ presentó diferencias estadísticamente significativas respecto de las

otras concentraciones utilizadas. La curva de inhibición descendió abruptamente desde 0 a 0,2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, estabilizándose desde 0,2 a 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Figura 2).

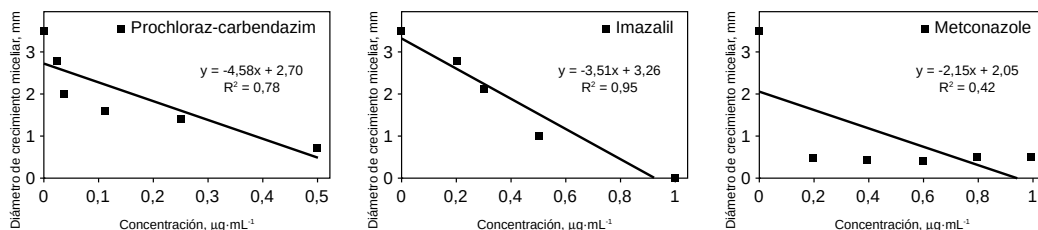


Figura 2. Curva de mortalidad de *Ulocladium cucurbitae* vs. concentración de prochloraz-carbendazim, concentración de imazalil y concentración de metconazole.

Figure 2. Mortality rate of *Ulocladium cucurbitae* vs. prochloraz-carbendazim concentration, imazalil concentration and metconazole concentration.

Efectividad de fungicidas *in vivo*

Los resultados obtenidos *in vivo* se presentan en el Cuadro 3. El análisis estadístico realizado demostró la inexistencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tres fungicidas evaluados ($p > 0,05$). No se obtuvo interacción significativa, respecto de las posibles interacciones entre el método de inoculación (con y sin herida); momento de la aplicación de los fungicidas (pre o post inoculación) y los fungicidas utilizados. No obstante, el efecto del método de inoculación fue significativo ($p \leq 0,05$).

Discusión

De acuerdo con los resultados obtenidos se demuestra la presencia de *U. cucurbitae* como agente causal de la “picada negra” del zapallo conservado por varios meses en postcosecha en Chile. Estudios previamente realizados demostraron la presencia de un hongo similar a *Ulocladium* sp. (Arriagada, 1973). Sin embargo, el hongo obtenido fue identificado como *A. tenuis*, coincidiendo sólo en parte con la descripción realizada por Simmons (1967). Dicho hongo se caracterizó por presentar conidióforos cortos, septados, simples, de color pardo, y conidias clavadas a moniliformes con 3-4 septos transversales y un número variable de septos longitudinales (Arriagada, 1973).

Según Simmons (1967), *U. cucurbitae* es común en cucurbitáceas, produce abundantes conidias

ovales y elipsoides, similares a las conidias producidas por especies de *Alternaria*. Las conidias elipsoides presentan una coloración pardo oscuro, apariencia verrugosa, de 25 μm de largo, con un septo primario mayor y 1-2 septos parciales secundarios. Las conidias ovoides se presentan en menor número, de 13-15 μm de largo, pardas a doradas y presentan un septo medio transversal u oblicuo, 2-3 septos transversales secundarios y 1-2 septos longitudinales. Además, los conidióforos son erectos ascendentes, simples o ramificados, pardo dorados, septados y ligeramente rugosos (Simmons, 1998).

Sin embargo, Arragada (1973) y Simmons (1967 y 1998) no consideraron la variabilidad debida a la temperatura de incubación y otros factores medio ambientales. Esta variabilidad se expresó en el tamaño conidial, color de la colonia en APD y en el número de células por conidia. Estos aspectos fueron considerados en este estudio, constatándose la existencia de dimorfismo conidial. Este dependió de la temperatura de incubación.

Los tres fungicidas, imazalil, metconazole y la mezcla de prochloraz y carbendazim, evaluados *in vitro* demostraron inhibir el crecimiento micelial de *U. cucurbitae* con $\text{CMI} < 1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Sin embargo, la mezcla de prochloraz-carbendazim fue más eficaz *in vitro*, inhibiendo el crecimiento micelial con concentraciones inferiores respecto a imazalil y metconazole.

Cuadro 3. Número de trozos de zapallo de guarda con desarrollo de *Ulocladium cucurbitae*, inoculados con y sin heridas, luego de 14 días de incubación a temperatura ambiente (18-20°C).

Table 3. Number of pumpkin pieces with development of *Ulocladium cucurbitae*, inoculated with and without wounds, and incubated for 14 days at room temperature (18-20°C).

Método de carbendazim	Fungicidas ²		
	Metconazole	Imazalil	Prochloraz-
inoculación ¹	0,0635µg·mL ⁻¹	0,088µg·mL ⁻¹	0,01423µg·mL ⁻¹
Con herida A	3/6 a ³	3/6 a ³	1/6 a ³
Con herida B	2/6 a	4/6 a	3/6 b
Sin herida A	2/6 a	0/6 b	1/6 a
Sin herida B	0/6 b	0/6 b	0/6 c

¹A = Fungicida aplicado antes de la inoculación. B = Fungicida aplicado después de la inoculación. A = Fungicide in contact with the fruit cuticle before inoculation.

B = Inoculation was done ray before to spray the respective fungicide on the fruit cuticle.

²Metconazole (90 g·L⁻¹, Caramba SL), imazalil (500 g·L⁻¹, Fungaflor EC) y prochloraz-carbendazim (300 g·L⁻¹-80 g·L⁻¹, Sportak Alpha SC).

Metconazole (90 g·L⁻¹, Caramba SL), imazalil (500 g·L⁻¹, Fungaflor EC) and prochloraz-carbendazim (300 g·L⁻¹-80 g·L⁻¹, Sportak Alpha SC).

³Numerador = trozos de zapallo de guarda dispuestos en cajas de polietileno con presencia de *U. cucurbitae*. Denominador = total de trozos de zapallo de guarda inoculados. Promedios seguidos por igual letra no son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de comparación múltiple de Duncan ($p \leq 0,05$). Numerator = pumpkin pieces, placed on polyethylene boxes, with *U. cucurbitae* growth. Denominator = total number of inoculated pumpkin pieces. Means followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range comparison ($p \leq 0,05$).

A pesar de los resultados *in vitro*, es importante señalar que *in vivo* no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tres tratamientos fungicidas evaluados. Prochloraz ha demostrado ser eficiente en el control de *Penicillium* sp. y *Alternaria* sp. en postcosecha en manzanas, peras, naranjas y otras frutas (Barbera, 1989). Carbendazim controló *P. expansum* en peras después de 30 días de almacenaje en cámara húmeda (Tamm, 1990). Imazalil controló *A. alternata* inoculada en peras con herida a concentraciones de 500 µg·mL⁻¹ (Tamm, 1990).

Los trozos de zapallo desarrollaron “picada negra” sólo en presencia de heridas en la cutícula. Por lo tanto, estos resultados sugieren

que las heridas son la principal vía de penetración del patógeno. Aparentemente, *U. cucurbitae* carece de mecanismos que le permita penetrar activamente. Por esto, es fundamental establecer un adecuado manejo de los frutos de zapallo, en la cosecha y poscosecha, para evitar heridas y reducir el riesgo de infecciones con este u otros patógenos. Entre otras medidas, es importante cosechar frutos maduros, permitir la cicatrización de la herida producida al cortar el pedúnculo, evitar apilarlos en forma excesiva en la bodega y conservarlos entre 10-15 °C con alrededor de 60% de humedad relativa. Además, es importante efectuar un transporte cuidadoso, evitando herir los frutos.

Resumen

El presente estudio se realizó con el propósito de identificar y determinar al agente causal de la pudrición en poscosecha del zapallo de guarda (*Cucurbita maxima* Duch.), conocida comúnmente como “picada negra” en Chile. Al mismo tiempo se evaluó posibles alternativas de control, mediante el uso de fungicidas. A través de sucesivos aislamientos desde frutos enfermos y posteriores inoculaciones en frutos sanos, se identificó *Ulocladium cucurbitae* (Letendre and Roum.) Simmons como el agente causal de la “picada negra”. Finalmente se procedió a evaluar la respuesta de diferentes fungicidas *in vitro* e *in vivo*. El estudio *in vitro* se dividió en dos ensayos, en el primero se evaluó iprodione, prochloraz-carbendazim, iprodione-bromuconazole, folpet, metconazole, chlorothalonil, mancozeb, imazalil, epoxiconazole-kresoxim metil y benomyl. En un segundo ensayo se seleccionaron los tres fungicidas más efectivos en la inhibición del desarrollo del micelio de *U. cucurbitae*. Con los tres fungicidas seleccionados se realizó la prueba *in vivo* utilizándose trozos de fruto de zapallo de guarda inoculados previo y posteriormente a la aplicación del fungicida. Los productos que presentaron mayor efectividad en *in vitro* fueron metconazole, imazalil y la mezcla prochloraz-carbendazim. El tratamiento más efectivo fue la mezcla de prochloraz y carbendazim (300 g·L⁻¹-80 g·L⁻¹, Sportak Alpha SC), a una concentración de 0,042 µg·L⁻¹. Los otros fungicidas evaluados

fueron inefectivos para inhibir el desarrollo del micelio de *U. cucurbitae*, siendo estadísticamente similares al testigo sin fungicida. Además, en el estudio in vivo se comprobó que la infección causada por *U. cucurbitae* ocurre sólo en presencia de heridas en el fruto.

Palabras clave: *Cucurbita maxima*, enfermedades de poscosecha, hortalizas, picada negra, *Ulocladium cucurbitae*, zapallo.

Literatura citada

- Apablaza, G. 1974. Pudriciones de zapallo y cebolla en bodegas de almacenaje. El Campesino (Chile) 1058: 48-57.
- Arriagada, V. 1973. Detección, identificación y evaluación de patogenicidad de hongos que atacan zapallo (*C. pepo* L.) tipo camote, Almacenado. Memoria de Título Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 60 pp.
- Baccelliere, M. 1986. Comportamiento del zapallo de guarda (*Cucurbita maxima* Duch.) bajo tres condiciones de almacenaje. Memoria de Título Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile. Santiago Chile. 70 pp.
- Barberá, C. 1989. Pesticidas Agrícolas. 4a Edición. Editorial Omega. Barcelona. España. 604 pp.
- Butler, D., M.J. Griffin, and J.T. Fletcher. 1979. Leaf spot on cucumber caused by *Ulocladium atrum*. Plant Pathology 28: 96-97.
- INE. 1997. VI Censo Nacional Agropecuario. Resultados preliminares. Instituto Nacional de Estadísticas. Gobierno de Chile. Santiago, Chile. 443 pp.
- Leach, C.M., and M. Aragaki. 1970. Effects of temperature on conidium characteristics of *Ulocladium chartarum* and *Stemphylium floridarum*. Mycologia 62: 1071-1076.
- Monardes, H. 1977. Comportamiento de post-cosecha de *Cucurbita maxima* Duch. Memoria de Título Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile. Santiago, Chile 70 pp.
- Paredes, O. 1975. Sistemas de almacenaje y control químico de hongos que atacan zapallos (*Cucurbita maxima* Duch.) tipo camote, almacenados. Memoria de Título Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 43 pp.
- Sakamoto, I. 1986. Detection of fungicide resistance strain in *B. cinerea* in laboratory practices of the course on Pesticide Utilization for Plant Protection. Akashi, Hyogo. Prefectural Agric. Center, Div. of Plant Pathology and Entomology. Japan. 132 pp.
- Simmons, E.G. 1967. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. Mycologia 59: 67-92.
- Simmons, E.G. 1998. Multiplex conidium morphology in species of the *Ulocladium atrum* group. Canadian Journal of Botany 76: 1533-1539.
- Tamm, A.J. 1990. Evaluación en Post-Cosecha del Fungicida Imazalil Frente a *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* en Manzanas cv. Granny Smith y Peras cv. Winter Nelis. Memoria de Título Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile, Santiago, Chile 77 pp.
- Zitter, T.A., and L.W. Hsu. 1990. A leaf spot cucumber caused by *Ulocladium cucurbitae* in New York. Plant Disease 74: 824-827.
- Zitter, T.A., and L.W. Hsu. 1992. Influence of temperature and fungicide on germination, growth, and virulence of *Ulocladium cucurbitae* on cucumber. Phytopathology 82: 358-362.
- Zitter, T.A. 1996. Fungal Disease of Aerial Parts. p. 32. In: A. Thomas, L. Donald, and C. Thomas (eds.) Compendium of Cucurbits Disease. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA. 87 pp.