

EFECTO DE iprodione, folpet y folpet+prochloraz SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE *Alternaria solani* y *Trichoderma harzianum*

Effect of iprodione, folpet and folpet + prochloraz on the mycelial growth of Alternaria solani and Trichoderma harzianum

Celia Maria Fernández Chávez^{1*}

¹Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía.

Héroes del Acre N°1850, La Paz, Bolivia.

*Autor de contacto: cmfch3311@hotmail.com

RESUMEN

El tomate es una de las hortalizas más consumidas a nivel mundial, por tal motivo es muy importante prevenir las enfermedades fúngicas del mismo. El tizón temprano, ocasionado por *Alternaria solani* causa una disminución considerable de la producción. El control de este patógeno es con agroquímicos, los cuales dan resultados favorables; sin embargo, su uso trae como consecuencia efectos nocivos sobre el ambiente debido a su residualidad. Muchos hongos compiten como antagonistas o parásitos para el control de fitopatógenos. *Trichoderma harzianum* es producido como fungicida biológico, siendo el ingrediente activo del producto Trichodex 25% WP, su modo de acción consiste en consumir los nutrientes disponibles y secretados por los tejidos de la planta. Ejerce una acción de competencia por nutrientes y espacio.

Los fungicidas utilizados en esta investigación “in vitro” para determinar la dosis mediana efectiva (ED₅₀) de *A. solani* y *T. harzianum* cepa T-39, fueron iprodione, folpet y folpet+prochloraz, los que pertenecen a diferentes grupos químicos. El método utilizado fue el de dilución que consiste en la incorporación de los ingredientes activos al medio nutritivo (APD). Los tratamientos se realizaron con cuatro muestras por cada dosis de fungicida y dos repeticiones. Además, se dejaron placas con APD sin fungicida para ser utilizados como testigos.

Considerando los valores ED₅₀ obtenidos por los fungicidas con *T. harzianum* se podría estimar como compatibles de uso a folpet e iprodione en aplicaciones alternadas con el biocontrolador *T. harzianum*.

Palabras claves: *Trichoderma harzianum*, *Alternaria solani*, iprodione, folpet, folpet+prochloraz, dosis mediana efectiva (ED₅₀).

ABSTRACT

Tomato is one of the most consumed vegetables worldwide, so it is very important to prevent fungal diseases. Early blight, caused by *Alternaria solani* causes a considerable decrease in production. The control of this pathogen is with agrochemicals, which give favorable results; however, its use results in harmful effects on the environment due to its residuality. Many fungi compete as antagonists or parasites for the control of phytopathogens. *Trichoderma harzianum* is produced as a biological fungicide, being the active ingredient of the Trichodex 25% WP product, its mode of action is to consume the nutrients available and secreted by the tissues of the plant. It exerts a competition action for nutrients and space.

The fungicides used in this research “in vitro” to determine the median effective dose (ED_{50}) of *A. solani* and *T. harzianum* strain T-39, were iprodione, folpet and folpet + prochloraz, which belong to different chemical groups. The method used was that of dilution consisting of the incorporation of the active ingredients into the nutrient medium (APD). The treatments were performed with four samples for each dose of fungicide and two repetitions. In addition, plates with APD were left without fungicide to be used as controls.

Considering the ED_{50} values obtained by fungicides with *T. harzianum*, it could be estimated as compatible for use with folpet and iprodione in applications alternated with the biocontroller *T. harzianum*.

Keywords: *Trichoderma harzianum*, *Alternaria solani*, iprodione, folpet and folpet + prochloraz, median effective dose (ED_{50})

1. INTRODUCCION

El tomate es una hortaliza de gran valor económico para algunos países, por ello es de suma importancia prevenir las enfermedades del cultivo de tomate y de forma particular las enfermedades fúngicas del mismo.

Una gran parte de las enfermedades reportadas que afectan los cultivos con importancia económica son causadas por hongos. El número de especies de hongos conocidos es superior a 100,000, de los cuales alrededor de 8,000 son capaces de causar algún tipo de enfermedad en las plantas. Todas las plantas son atacadas en alguna etapa de su desarrollo por uno o más patógenos fúngicos, siendo que la mayoría puede parasitar una o más especies vegetales. (Velasquez y Torres, 2017).

El tizón temprano, ocasionado por *Alternaria solani*, el cual afectan ramas, pecíolos, hojas tallos y frutos, causando una disminución considerable de la producción. Tradicionalmente el control de estos patógenos ha sido por agroquímicos, los cuales se aplican a la semilla, follaje y al suelo, con resultados favorables; sin embargo, su uso trae como consecuencia efectos nocivos sobre el ambiente debido a su residualidad, lo que provoca que se acumulen en cuerpos de agua, suelo, plantas y animales; además, generan resistencia por parte de los fitopatógenos, sin olvidar el detrimento que causa en la salud humana. Lo anterior justifica plenamente la búsqueda de agentes de control biológico (CB) como una alternativa viable al uso indiscriminado de plaguicidas en la agricultura, (Fraire, 1993).

Los hongos más utilizados y conocidos en CB pertenecen a los *Hyphomycetes*; entre ellos, los géneros *Trichoderma*, *Penicilium* y *Gliocladium*. El género *Trichoderma* está catalogado entre los agentes de control biológico más

eficientes debido al amplio espectro antagonista que presentan; las enzimas extracelulares que producen con actividad antibiótica, el micoparasitismo y por la habilidad de incrementar el desarrollo y crecimiento de las plantas, entre otros mecanismos de acción (Harman, Howell, Viterbo, Chet y Lorito, 2004).

Trichoderma spp., se utiliza como agente de biocontrol contra hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Botrytis cinerea* y *Fusarium* spp., entre otros. (Omann, 2007), y ha demostrado efectividad al reducir in vivo hasta un 65% la tristeza causada por *Phytophthora capsici* en pimiento, (Ezziyyani, Perez, Sid, Requena y Candela, 2004). Considerando lo anterior, el uso de *Trichoderma* spp., es una alternativa con potencial para el control de muchas enfermedades; sin embargo, es importante obtener y evaluar aislados nativos con suficiente capacidad antagonista para controlar a los fitopatógenos en la misma localidad referida.

Muchos hongos compiten exitosamente como antagonistas o parásitos y el hombre ha empleado este conocimiento para el control de algunos fitopatógenos. Desde la década de 1950, los fitopatólogos han comprendido la potencialidad de los hongos para el biocontrol de enfermedades de las plantas, tanto solos como en combinación con fungicidas. Muchas investigaciones han pasado desde una etapa experimental a una aplicación comercial en la última década (FAO, 1986).

Este tipo de control que utiliza microorganismos antagonistas constituye un método más de control de enfermedades en plantas. Dentro de los microorganismos que se utilizan actualmente para el control biológico, destacan las especies de hongos del género *Trichoderma*.

T. harzianum es producido como un fungicida biológico,

siendo el ingrediente activo del producto Trichodex 25% WP. Su modo de acción consiste en consumir los nutrientes disponibles y secretados por los tejidos de la planta. Ejerce una acción de competencia por nutrientes y espacio. Actúa en forma preventiva y es altamente selectivo. *T. harzianum* presenta antagonismos hacia varios hongos fitopatógenos, tales como: *Botrytis*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium* y *Alternaria*, entre otros. Las poblaciones de *T. harzianum* reaccionan de modo diferente de acuerdo a las condiciones atmosféricas, temperatura, nutrición y edad de las plantas. (Universidad de Chile, 2005)

Además de los hongos fitopatógenos señalados anteriormente, también se ha estudiado el grado de control alcanzado utilizando especies de *Trichoderma* sobre *Botrytis cinerea* (Jalil, 1997).

El Control Químico es una de las prácticas más comunes de manejo de plagas en las áreas de producción agrícola, el uso de nuevos de compuestos químicos (sintéticos), durante la década de los 60, hasta la fecha, por su alta efectividad, dieron la impresión que no sería necesario continuar con las prácticas anteriores de control de plaga. Manual de Manejo de Plagas Proyecto Desarrollo Territorial Comunitario Integrado para Comunidades Alejadas en la Amazonía, (FUNDESNAP, 2012).

El uso de fungicidas se realiza cuando se observa, que la enfermedad puede causar pérdidas en la producción, por lo que se hace necesario monitorear los niveles de desarrollo de la enfermedad durante el crecimiento del cultivo, (Carlile, 1988). Estos compuestos químicos inhiben la germinación, el desarrollo y la reproducción de los patógenos, o bien son completamente letales a ellos (Agrios, 2005).

Los fungicidas modernos ejercen una fuerte presión de selección con mayor potencia y persistencia y mayor distribución en la especie tratada. El uso alternativo de fungicidas o mezclas de fungicidas han tenido éxito en el retraso de la aparición de la resistencia, (Knight, 1997).

Los fungicidas utilizados en los ensayos de esta investigación "in vitro" para determinar la dosis mediana efectiva (ED_{50}) de *A. solani* y *T. harzianum* cepa T-39, fueron iprodione, folpet y folpet+prochloraz, los que pertenecen a diferentes grupos químicos.

Las dicarboximidias son fungicidas sistémicos con actividad preventiva y curativa y modo de acción muy selectivo, inhibiendo la división celular. (Blangero y Bassignani, 2010). Las dicarboximidias son productos fungi-

cidas, descubiertos y desarrollados comercialmente desde 1977, e incluye compuestos como iprodione (Figura 1), procimidone y vinclozolin y otros.

Los fungicidas de este grupo presentan actividad contra algunos hongos fitopatógenos de las clases ascomicetes y de hongos imperfectos. Iprodione es además activo contra especies del género *Alternaria*, *Phoma* y especies del género *Aspergillus* y *Sclerotium*, (Latorre, 1989).

Según (Thomson, 1988), Iprodione recibe también los siguientes nombres: Glycophene, Rovral 4Flo, Chipco-26019 y Kidan y químicamente es: 3-(3, 5-dichlorophenyl)-N-(1-methylethyl)-2, 4-dioxo-1-imidazolidina carboxamida.

Iprodione es un compuesto que interfiere con la actividad y/o síntesis de ADN. Inhiben la germinación de esporas y provocan lisis de hifas. Se han reportado casos de acostumbamiento de hongos en varios países, aunque la resistencia es relativa y la población puede volver a ser sensible luego de unos meses sin contacto con este grupo de fungicidas. Tiene escasa capacidad de moverse en el vegetal, se comportan más como productos de contacto con buen grado de absorción.

Dentro del grupo de las ftalimidias se encuentra folpet (Figura 2), con actividad fungicida por vía foliar y acción preventiva presentada en forma de gránulos dispersables en agua, lo que facilita la dosificación y preparación del caldo fungicida, para aplicar al cuello de la planta o en pulverización foliar. (Terralia, 2019). En relación a su modo de acción inhibe la actividad de las enzimas sulfhídricas con lo que se libera tiofosgeno, producto tóxico para el hongo, también interfiere la respiración y el transporte de electrones. (Terralia, 2019).

Folpet provoca acumulación del ácido pirúvico e interfiere en el ciclo de Krebs en la respiración celular de los hongos, produciéndose acumulación de hidratos de carbono, lo que inhibe la respiración celular y la germinación de esporas del hongo (CYANAMID, 1996).

Se realizó el estudio sobre la interacción de folpet con proteínas de tiol, gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa, donde se indica que la fungitoxicidad es perdida por el reemplazo de P=S por P=O, como también -S-CH₂- por -O- entre los átomos de nitrógeno y fósforos. (Cremllyn, 1991).

Folpan 80 WDG, tiene como ingrediente activo a folpet con una concentración del 80%, actúa por contac-

to, previniendo que se produzca la infección al matar las esporas e inhibe su germinación. Folpet no penetra los tejidos celulares y no se transloca dentro de las plantas. Es un fungicida de multiacción o acción múltiple, es decir, actúa en diferentes sitios de los hongos, lo cual es de gran importancia para prevenir la aparición de razas resistentes (CYANAMID, 1996).

Folpan recibe también los siguientes nombres: Folpet, Folnit, Phaltan, Thiophal y Vinicoll; siendo su nombre químico N-(Trichloromethylthio) phthalimide.

Los fungicidas IBE (inhibidores de la biosíntesis de esteroides) interfieren la biosíntesis del ergosterol, que es un constituyente estructural de las membranas celulares de hongos pertenecientes a los ascomicetes, basidiomicetes y algunos deuteromicetes (Carlile, 1988), siendo sintetizado por ellos mismos, lo que provoca la pérdida de la funcionalidad de estas estructuras. La mayoría de los hongos biosintetizan ergosterol para el desarrollo de su micelio.

Entre los fungicidas inhibidores de la biosíntesis de los esteroides, los azoles, específicamente los imidazoles y los 1, 2, 4 triazoles, tienen especial importancia, presentan un inmenso potencial fungicida y abren posibilidades para el desarrollo de nuevos productos (Latorre, 1989). Son compuestos que han demostrado efectividad contra un amplio rango de hongos fitopatógenos, patógenos humanos e incluso algunos tienen acción bactericida sobre bacterias. La actividad biológica de estos compuestos está determinada por la presencia del grupo imidazol.

Los fungicidas más importantes de los imidazoles son prochloraz (Figura 3), imazalil, y triflumizol. Prochloraz es un fungicida de amplio espectro, especialmente contra ascomicetes y hongos imperfectos, y con una menor actividad contra los basidiomicetes (Pommer y Lorenz, 1987). Es un fungicida de categoría toxicológica III (tres), perteneciente al grupo químico multisitios+imidazoles. Su modo de acción es Preventivo, curativo; sistémico, contacto. (Amador, 2010).

Fungicida de contacto de amplio espectro y de acción translaminar, capaz de controlar una amplia gama de enfermedades fungosas de importancia económica en cultivos extensivos y cereales. Alta resistencia al lavado por lluvias. Autorizado para aplicación en paltas en post-cosecha, (ADAMA, 2019).

Folpet+prochloraz (Mirage-F), es un compuesto que resulta de la combinación de dos fungicidas folpet y pro-

chloraz, los que pertenecen a diferentes grupos químicos, por lo que tienen diferente modo de acción y por lo tanto ésta co-formulación reduce el riesgo del desarrollo de resistencia. El ingrediente activo de Mirage-F está conformado por un 70% de folpet y un 15% de prochloraz, (ADAMA, Mirage 45 EC - ADAMA, 2019).

Estudios realizados "in vitro" del efecto de los fungicidas sobre *T. harzianum*, indican que folpet fue más compatible con el crecimiento micelial de *T. harzianum* en comparación con iprodione el que afectó en menor medida la germinación del mismo.

Con el propósito de comparar la acción de los diferentes fungicidas, (Galdames, 1986) propuso que un aislamiento es tolerante si su ED_{50} es mayor o igual a 50 ppm; es medianamente tolerante si su ED_{50} se encuentra entre las 10 y 50 ppm; es sensible si la ED_{50} está entre 1 y 10 ppm; y extremadamente sensible si la ED_{50} es menor a 1 ppm.

Por lo expuesto anteriormente se estimó necesario realizar el presente ensayo que tuvo por objetivo, determinar la Dosis Mediana Efectiva (ED_{50}) de iprodione, folpet y folpet+prochloraz sobre *Alternaria solani* y *Trichoderma harzianum*.

2. MATERIALES Y METODOS

La identificación del agente causal del tizón temprano y la determinación de la Dosis Mediana Efectiva (ED_{50}) de los fungicidas fueron realizadas en el laboratorio de Patología de Cultivos de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

En un tejido enfermo a menudo se encuentra más de un microorganismo, el que puede ser saprófito, lo que hace necesario establecer cultivos puros para así estudiar la patogenicidad de los mismos. Los aislamientos de *A. solani* se realizaron a partir de plantas de tomate obtenidas de invernaderos de la parcela "Las Delicias" de la Inmobiliaria "Santo Estefano" en Curacaví, las cuales presentaron los síntomas de la enfermedad. Se tomaron folíolos y/o frutos de la planta, que mostraban manchas necróticas en las láminas y pudrición de frutos.

Posteriormente en el laboratorio, se realizó cultivo de tejidos enfermos en medio nutritivo APD (Agar Papa Dextrosa) y, luego de 6 a 7 días de incubación a $\pm 26^{\circ}\text{C}$, se obtuvieron colonias fungosas que fueron observadas al microscopio de luz para su identificación.

El hongo antagonista utilizado en el presente ensayo fue *T. harzianum* cepa T-39, formulado comercialmente como Trichodex 25 WP por Makhteshim Chemical Works, conteniendo 10^9 UFC/g (Unidades Formadoras de Colonia). A partir de esta formulación, se preparó una solución en agua destilada de 1×10^6 propágulos, utilizándose para el efecto un hemacitómetro de 0.1 mm y Tween 20 (0.1%). Se colocó 1 μ l de ésta solución en el centro de placas de Petri conteniendo medio de APD hasta lograr crecimiento micelial significativo, para tener una fuente de inóculo base para las placas en evaluación.

El medio de cultivo utilizado en esta investigación fue APD. Esta determinación se realizó en consideración a estudios realizados sobre el crecimiento micelial de *T. harzianum* por (Jalil, 1997), y de *A. solani* por (Andreu y Cupull, 1993), quienes encontraron que estos hongos presentan un buen comportamiento en dicho medio. (Biocontrol, 2005).

Para determinar la dosis mediana efectiva (ED_{50}) de iprodione, folpet y folpet+prochloraz sobre *A. solani* y *T. harzianum* se utilizaron diferentes concentraciones de los ingredientes activos de los mismos.

Las concentraciones de ingredientes activos de los productos para determinar la ED_{50} sobre *A. solani* fueron 0.1; 0.5; 1.0; 3.0; 5.0 y 10.0 mg i.a./L (iprodione y folpet+prochloraz); y de 10.0; 20.0; 30.0; 40.0; 50.0 y 60.0 mg i.a./L (folpet).

Las concentraciones de ingredientes activos de los fungicidas para determinar la ED_{50} sobre *T. harzianum* fueron 0.5; 3.0; 5.0; 20.0 y 50.0 mg i.a./L (iprodione y folpet); y 0.1; 0.3; 0.5; 1.0; 5.0 y 10.0 mg i.a./L (folpet+prochloraz).

El método utilizado en el ensayo fue el de dilución, que consiste en la incorporación de los ingredientes activos al medio nutritivo (APD) (Moreno, Fresnada, Muller y Logo, 1990); (Henriquez y Montealegre, 1992). Posteriormente, se procedió a adicionar el medio en las placas Petri. Las placas fueron sembradas con un trozo de micelio (6 mm de diámetro) de *A. solani* y *T. harzianum*; el cual fue puesto en el centro de la placa, siendo selladas con parafilm e incubadas las primeras 24 horas en oscuridad para *T. harzianum* y posteriormente con luz halógena (OSRAM DULUX EL 15w/41-827.230v.50-60 Hz) en forma continua a una temperatura de $\pm 28^\circ\text{C}$ durante nueve días para *A. solani* y tres días para *T. harzianum*.

Los tratamientos se realizaron con cuatro muestras por cada dosis de fungicida y dos repeticiones. Además, se dejaron placas con APD sin fungicida para ser utilizados como testigos.

Para evaluar la acción del fungicida se siguieron las recomendaciones de (French y Hebert, 1982); comenzando a medir el crecimiento radial del micelio en la superficie del agar, a los tres días, para *A. solani* y a los dos días para *T. harzianum*, después de sembrado el inóculo, se procedió a determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, en relación a las placas testigos (tratamiento sin fungicida). Este porcentaje se transformó en unidades de probabilidad (probits), expresándose la concentración de fungicida en logaritmo. Mediante estos valores se realizó un análisis de Regresión Lineal Simple entre los valores Probit (promedio de las repeticiones) y la concentración del fungicida expresado en logaritmo, para determinar los valores ED_{50} (concentración estimada para inhibir en un 50% el crecimiento micelial, obtenido para cada fungicida).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la identificación de *Alternaria solani*, se realizó un análisis de elementos morfológicos (micelio, conidiosforos y conidias Zachmann; (Agrios, 2005) entre otros) del hongo previamente aislado de material vegetal proveniente de tomate de Curacaví.

La identificación del inóculo fue realizada por el Dr. Gastón Apablaza, profesor de la Cátedra de Patología de cultivos de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

3.1. Efecto de los fungicidas sobre el crecimiento micelial de *ALTERNARIA SOLANI*, "in vitro".

En la tabla 1, se puede observar que iprodione ejerció una notoria inhibición del crecimiento micelial del hongo en todas las concentraciones estudiadas. En las dosis bajas (0.1 y 0.5 mg/L) el hongo tuvo su mayor crecimiento a partir de las 72 hr hasta las 216 hr de incubación, pero se observó que en la dosis alta (10.0 mg/L) el hongo fue inhibido completamente en su crecimiento. Folpet+prochloraz, permitió un crecimiento micelial mayor en las dosis bajas (0.1 y 0.5 mg/L) y menor en la dosis alta (10.0 mg/L) durante los nueve días de incubación. En las dosis de 3.0 y 5.0 mg/L el crecimiento micelial fue en menor

proporción durante las 144 hr, luego de éste tiempo se observó un mayor crecimiento micelial.

La comparación de iprodione con folpet+prochloraz en las dosis probadas, indica, que folpet+prochloraz permitió crecimiento micelial del hongo en todas las dosis estudiadas, en cambio iprodione presentó inhibición del micelio en la dosis alta durante las 216 hr de incubación mostrando, por lo tanto, un efecto residual más largo.

Folpet, probado en las dosis anteriores no presentó diferencias en el crecimiento micelial con respecto al testigo, por lo que se tuvo que incrementar dichas dosis, al rango comprendido entre 10 y 60 mg i.a./L. Se obtuvo un menor crecimiento micelial a partir de los 10.0 mg i.a./L, presentándose el menor crecimiento micelial en la dosis alta (60.0 mg/L) durante los nueve días de incubación. Las dosis de 10.0; 20.0 y 30.0 mg/L presentaron mayor crecimiento micelial especialmente después de las 144 hr.

TABLA 1: Diámetro de crecimiento del micelio de *A. solani* (cm)

Tratamiento	Concent. (mg i.a./L)	Diámetro del micelio (cm)		
		72 hr	144 hr	216 hr
Testigo	0.0	4.20	6.36	9.00 *
	0.1	3.80	5.81	7.81
	0.5	1.26	3.20	5.01
	1.0	0.90	2.55	3.84
	3.0	0.60	1.32	2.19
	5.0	0.60	1.26	1.92
Rovral 4Flo (iprodione)	10.0	0.60	0.60	0.60 **
	0.1	3.78	4.92	6.79
	0.5	2.16	2.94	4.77
	1.0	1.98	2.99	3.99
	3.0	1.50	1.91	3.07
	5.0	1.05	1.34	2.90
Mirage-F (folpet+prochloraz)	10.0	0.87	1.14	1.75
	10.0	2.70	4.84	7.77
	20.0	1.82	3.70	6.37
	30.0	1.55	2.89	4.55
	40.0	1.47	2.35	3.40
	50.0	1.46	2.31	3.00
Folpan 80 (folpet)	60.0	1.41	2.11	2.49

*Diámetro máximo de la placa Petri

**Diámetro del inóculo

En la figura 1 se observa que en dosis similares de iprodione y folpet+prochloraz, *A. solani* tuvo un crecimiento mayor en iprodione excepto en las dosis de 1.0 y 10.0 mg/L. El crecimiento micelial en folpet fue mucho mayor en comparación con los otros dos fungicidas ensayados, lo que significaría que este fungicida no ejercería un control eficiente del patógeno.

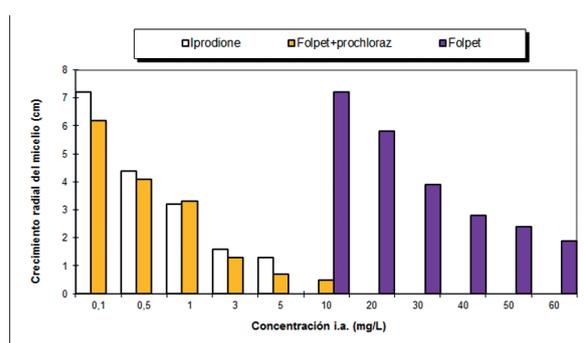


FIGURA 1: Crecimiento micelial de *A. solani* en tres fungicidas (iprodione, Folpet y folpet+prochloraz) con diferentes concentraciones de i.a. en mg/L

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas “in vitro” con los tres fungicidas (iprodione, folpet y folpet + prochloraz), se observó que todos los productos presentaron un grado de control entre moderado y alto sobre *A. solani*, lo que coincide con la información existente en la literatura, (Datnoff, Liang y Elliott, 1997) en el sentido de que estos compuestos actúan contra este hongo.

3.2. Determinación de la dosis mediana efectiva (ED_{50}) para *A. SOLANI*.

La figura 2, muestra las tres curvas de regresión lineal de los fungicidas (iprodione, folpet y folpet+prochloraz), con el ajuste de regresión respectivo. También se observa que iprodione y folpet+prochloraz presentaron menor variabilidad en su pendiente en comparación a folpet.

De los resultados obtenidos en las ecuaciones lineales, se puede indicar que el fungicida iprodione, resultó ser el fungicida con mayor efecto inhibitorio del crecimiento micelial de *A. solani* con un ED_{50} de 0.85 mg/L. Folpet+prochloraz presentaron un ED_{50} de 1.24 mg/L y folpet un ED_{50} de 33.64 mg/L.

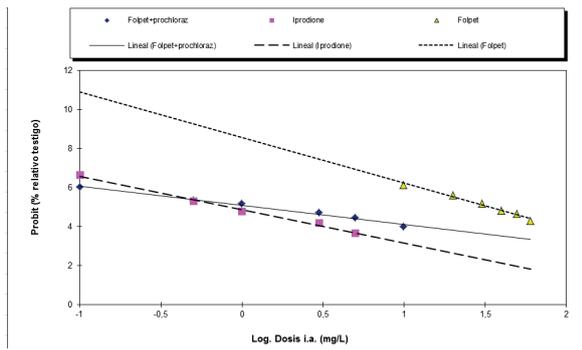


FIGURA 2: Curvas obtenidas de la regresión lineal, entre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *A. solani* en escala probit y el logaritmo de la concentración de los fungicidas en i.a.(mg/L) (iprodione, folpet y folpet+prochloraz).

3.3. Evaluación de fungicidas en la inhibición del crecimiento de *TRICHODERMA HARZIANUM*, “in vitro”.

En la tabla 2 se puede observar que iprodione ejerció una inhibición del crecimiento micelial del hongo (*T. harzianum*). En las primeras 48 hr en las dosis altas (20 y 50 mg/L) no se tuvo crecimiento micelial significativo, pero después de las 48 hr el crecimiento se incrementó levemente hasta las 96 hr. Las dosis bajas (0.5; 3.0 y 5.0 mg/L) permitieron el crecimiento micelial del hongo en forma moderada durante los cuatro días de incubación. Folpet, permitió crecimiento micelial tanto en dosis bajas (0.1; 3.0 y 5.0 mg/L) como en dosis altas (20 y 50 mg/L). Durante las primeras 48 hr el crecimiento micelial en las dosis altas fue menor notándose un incremento notable después de las 72 hr, al igual que en las dosis bajas, lo que sugiere que el comportamiento de este fungicida es compatible con *T. harzianum*.

Castellanos, realizo un ensayo con los siguientes productos: folpet (Folpam 80 PH), mancozeb (Mancozeb 75 PH) y zineb (Zineb 80 PH), así como de tres insecticidas: cipermetrina (Cipermetrina 10 EC), lambda cialotrina (Karate 5 EC) y abamectina (Abamectina 1,8 EC) a las concentraciones de 10, 100, 200, 500, 1000 y 2000 mg L-1. Fue evaluada la inhibición del crecimiento micelial de la colonia del hongo y la acción sobre la producción y la germinación de los conidios. Los plaguicidas fueron clasificados por su toxicidad sobre el antagonista de acuerdo con la escala de la OILB y por su compatibilidad según el valor T.

Los tres fungicidas folpet, mancozeb y zineb tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento del micelio del hongo *T. harzianum* al igual que abamectina y son clasificados como ligeramente tóxicos. Sin embargo se clasifica a zineb, como muy tóxico, y a mancozeb y folpet como moderadamente tóxicos, (Castellanos, 2019)

Folpet+prochloraz fue probado en las concentraciones de los anteriores fungicidas, pero no se observó crecimiento micelial comparativo entre las dosis, por lo que se redujeron las dosis ensayadas (0.03; 0.05; 0.1; 0.5; 1.0 y 5.0 mg i.a./L). Se observó que las dosis altas (1.0 y 5.0 mg i.a./L) inhibieron el crecimiento del hongo durante las 72 hr después de la inoculación, pero a las 96 hr se observó un crecimiento mínimo del inóculo. En las dosis bajas (0.03 y 0.05 mg i.a./L) el crecimiento micelial fue en mayor proporción desde las 48 hr hasta las 96 hr, y en la dosis de 0.1 y 0.5 mg i.a./L se obtuvo un crecimiento intermedio.

TABLA 2: Diámetro de crecimiento del micelio de *Trichoderma harzianum* (cm)

Tratamiento	Concent. (mg i.a./L)	Diámetro del micelio (cm)			
		48 hr	72 hr	96 hr	
Testigo	0.0	4.0	6.1	9.00 *	
	0.5	3.15	4.90	6.70	
	3.0	2.00	2.80	4.35	
	Rovral 4Flo (iprodione)	5.0	1.57	2.40	3.65
		20.0	0.90	1.10	2.02
Folpan 80 (folpet)	50.0	0.80	1.10	1.47	
	0.5	3.50	5.40	7.87	
	3.0	3.30	5.20	7.40	
	5.0	3.20	5.05	7.37	
	20.0	2.50	4.20	6.15	
Mirage-F (folpet+prochloraz)	50.0	2.30	4.07	5.92	
	0.03	3.20	5.10	7.00	
	0.05	2.50	4.50	6.50	
	0.10	2.00	3.80	5.50	
	0.50	1.00	1.50	2.00	
	1.00	0.90	1.10	1.20	
	5.00	0.60**	0.80	1.00	

*Diámetro máximo de la placa Petri

**Diámetro del inóculo

La figura 3 muestra el crecimiento micelial de *T. harzianum* sobre las diferentes concentraciones ensayadas y se observa que el crecimiento micelial fue menor con folpet+prochloraz en todas las concentraciones probadas en comparación con las concentraciones de iprodione y folpet. Iprodione presentó un mayor crecimiento del micelio en las dosis bajas que en las dosis altas; en cuanto a folpet se puede indicar que este fungicida permitió que el micelio del hongo se desarrollara ampliamente lo que indicaría que este fungicida es compatible con *T. harzianum*. Similares resultados fueron obtenidos por (Esterio, Auger, Alvarez, Caro, Maturana y Arroyo, 1997).

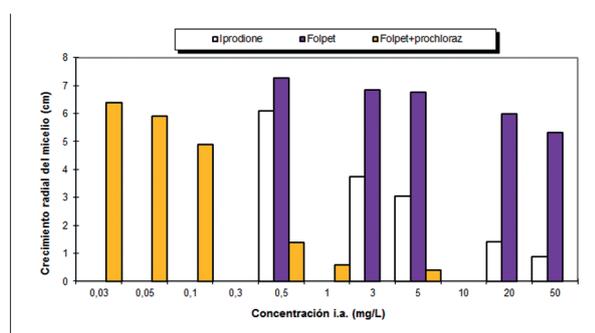


FIGURA 3: Crecimiento micelial de *T. harzianum* en tres fungicidas (iprodione, folpet y folpet+prochloraz) con diferentes concentraciones de i.a. (mg/L)

También se observó que las dosis utilizadas de iprodione y folpet fueron más altas en comparación a folpet+prochloraz. Esto se debe, probablemente a que iprodione y folpet son moderadamente compatibles con *T. harzianum* aunque estos fungicidas fueron reportados como moderadamente incompatibles con *T. harzianum* por (Elad, 1993) y (Auger y Esterio, 1998). Con respecto a folpet+prochloraz no se tiene ningún reporte, pero como se puede observar en la tabla 3.2 las dosis utilizadas en el presente ensayo fueron dosis bajas en comparación con los otros fungicidas lo que indica que posiblemente folpet+prochloraz es un fungicida incompatible con *T. harzianum*.

De acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas "in vitro" con los tres fungicidas (iprodione, folpet y folpet + prochloraz), se demostró que todos presentaron un cierto grado de inhibición en el crecimiento micelial de *T. harzianum*.

3.4 Determinación de la dosis mediana efectiva (ED₅₀) para *T. HARZIANUM*.

Las regresiones lineales (figura 4), correspondientes a folpet+prochloraz, iprodione y folpet, muestran que la pendiente de folpet es poco variable en comparación con los otros dos fungicidas (folpet+prochloraz e iprodione).

Una vez encontradas las ecuaciones de las regresiones lineales de cada fungicida se calculó la ED₅₀, por lo que se puede inferir que folpet+prochloraz, resultó ser el fungicida con mayor efecto inhibitorio del crecimiento micelial con un ED₅₀ de 0.115 mg i.a./L. Iprodione presentó una ED₅₀ de 2.116 mg i.a./L y folpet una ED₅₀ de 303.574 mg i.a./L.

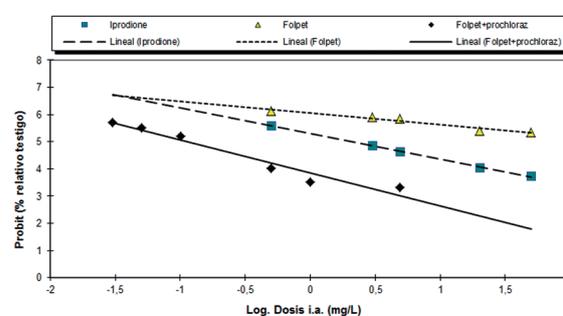


FIGURA 4: Curvas obtenidas de la regresión lineal, entre el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *T. harzianum* en escala probit y el logaritmo de la concentración de los fungicidas en i.a.(mg/L) (iprodione, folpet y folpet+prochloraz).

En la tabla 3 se muestran las ecuaciones de ajuste con sus respectivas R² y los ED₅₀ para cada uno de los ingredientes activos utilizados en los respectivos tratamientos. En este cuadro se puede observar que las ED₅₀ para inhibir el crecimiento micelial de *A. solani* variaron entre 0.85 y 33.67 mg i.a./L, para iprodione, folpet+prochloraz y folpet respectivamente, en comparación con *T. harzianum* cuyos ED₅₀ variaron entre 0.115 y 303.574 mg i.a./L, correspondientes a folpet+prochloraz, iprodione y folpet, por lo que se puede indicar que folpet es un fungicida no muy eficiente en el control de *A. solani* pero que a su vez es un fungicida que permitió un crecimiento micelial significativo de *T. harzianum*. Iprodione presentó el mayor nivel de control para *A. solani* pero con respecto a *T. harzianum* éste permitió un crecimiento micelial intermedio con respecto a los otros dos fungicidas.

Por último, folpet+prochloraz mostró una inhibición en el crecimiento micelial de *A. solani* intermedia con respecto a los otros fungicidas pero con respecto a *T. harzianum* la inhibición del crecimiento micelial fue máxima.

TABLA 3: Resultados de las pruebas de inhibición del crecimiento micelial de *A. solani* y *T. harzianum* con tres fungicidas

Patógeno	Fungicida	Ecuación de ajuste	ED50 mg/L	R2
<i>Alternaria solani</i>	Iprodione	$y = 4.8767 - 1.7109x$	0.85	0.99
	Folpet	$y = 8.5725 - 2.3391x$	33.67	0.98
	Folpet+prochloraz	$y = 5.093 - 0.98380x$	1.24	0.98
<i>Trichoderma harzianum</i>	Iprodione	$y = 5.3070 - 0.9427x$	2.11	0.99
	Folpet	$y = 6.0567 - 0.4257x$	303.57	0.94
	Folpet+prochloraz	$y = 3.8641 - 1.2111x$	0.11	0.95

La figura 5 muestra las diferentes dosis medianas efectivas (ED₅₀) correspondientes a los tres fungicidas (iprodione, folpet y folpet+prochloraz) ensayados sobre *A. solani* y *T. harzianum*. Folpet presentó los mayores ED₅₀ (33.67 y 303.57) en comparación con iprodione y folpet+prochloraz, los cuales muestran ED₅₀ menores a 2.11 mg i.a./L.

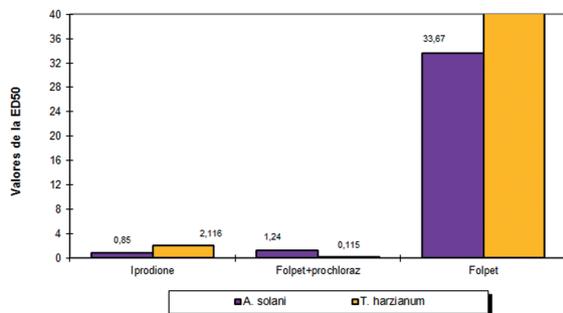


FIGURA 5: Dosis medianas efectivas de iprodione, folpet y folpet+prochloraz sobre *T. harzianum* y *A. solani*.

Utilizando la escala sugerida por (Galdames, 1986), *A. solani* resulta ser extremadamente sensible a iprodione por presentar una ED₅₀ de 0.85 mg i.a./L, sensible a folpet+prochloraz (ED₅₀ = 1.24 mg i.a./L) y medianamente tolerante a folpet (ED₅₀ = 33.64 mg i.a./L). *T. harzianum* por su parte resultó extremadamente sensible a folpet+prochloraz por presentar una ED₅₀ de 0.115 mg i.a./L, sensible a iprodione (ED₅₀ de 2.116 mg i.a./L) y finalmente tolerante a folpet debido a que presentó una ED₅₀ de 303.574 mg i.a./L.

4. CONCLUSIONES

Iprodione ejerció el nivel más alto de control de *A. solani* “in vitro”. Folpet+prochloraz presentó un nivel eficaz de control y folpet mostró una menor efectividad en el control de este patógeno.

Considerando los valores ED₅₀ obtenidos por los fungicidas con *T. harzianum* se podría estimar como compatibles de uso a folpet e iprodione en aplicaciones alternadas con el biocontrolador *T. harzianum*.

Iprodione ejerció “in vitro” una acción fungitóxica sobre *A. solani*.

Folpet+prochloraz “in vitro”, ejerció una acción fungistática de *T. harzianum* durante los primeros cuatro días, sugiriendo que puede ser utilizado en alternancia de fungicidas con una periodicidad superior a seis días.

5. REFERENCIAS

ADAMA. (2019). *Mirage 40 EC-ADAMA*. Recuperado de: <https://www.adama.com/chile/es/productos/fungicidas/mirage.html>.

ADAMA. (2019). *Mirage 45 EC - ADAMA*. Recuperado de: <https://www.adama.com/central-america/es/portafolio-de-soluciones/fungicidas/mirage-45-ec>

Agrios, G. (2005). *Fitopatología*. Mexico: Limusa.

Amador, W. (2010). *Fungicidas usados en viñedos*. Facultad de agronomía.

Andreu y Cupull, R. (1993). *Metodo para la rapida esporulacion Alternaria solani*. La Habana: Universidad Central de Las Villas.

Auger y Esterio, J. (1998). *Botrytis nuevas alternativas de control cultural, biologico y quimico*. Santiago: Facultad de Ciencias Agronomicas. Universidad de Chile.

Biocontrol. (2005). *trichoderma: Fungicida biologico, estimulador de crecimiento en plantas*. Palmira: Colombia.

Blangero y Basignani, D. (21 de Septiembre de 2010). Protección fitosanitaria en viticultura.

Carlile. (1988). Control of diseases. En *Fungicidas* (págs. 57-79). Departament of life Sciences.

Castellanos, N. M. (2019). Efecto in vitro de plaguicidas comerciales sobre *Trichoderma harzianum*. *Facultad de Ciencias Agrarias*.

Cremllyn, R. (1991). Fungicidas. En R. J. Cremllyn, *Agrochemicals* (págs. 157-216). England: John Wiley & Sons.

CYANAMID. (1996). *Manual de productos*. Santiago.

Datnoff, Liang y Elliott, L. (1997). In vitro effects of bi-

- carbonates, potassium silicate and iprodione on radial growth of *Alternaria solani*. *Phytopathology*, 87, 22.
- Elad, Y. (1993). Sensitivity of trichoderma. En Y. Elad, *Trichodex Sprayable Powder* (pág. 42).
- Esterio, Auger, Alvarez, Caro, Maturana y Arroyo, M. (1997). Efecto de los fungicidas mas utilizados en Chile en uva de mesa sobre Trichodex 25%. *Sociedad Uruguaya de Fitopatologia*, 275.
- Ezziyyani, Perez, Sid, Requena y Candela. (2004). Trichoderma harzianum como biofungicida para el control de Phytophthora capsici en palntas de pimienta . *Biologia*, 26, 35-45.
- FAO. (1986). *Manual para patólogos vegetales*. Pficina regional de la FAO.
- Fraire. (1993). *Extractos vegetales en el control del tizon temprano en laboratorio y campo abierto*. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/837/83712272002.pdf>
- French y Hebert, E. (1982). *Metodos de investigacion Fitopatologica*. San Jose: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.
- FUNDESNAP. (2012). *Manual de Manejo Integrado de Plagas*.
- Galdames, R. (1986). *Estudio de Tachigaren y otros fungicidas*. Chillan: Universidad de Concepcion.
- Galdames, R. (1986). *Estudio de Tachigaren y otros fungicidas en pruebas de invernadero e in vitro para el control de la caida de la remolacha*. Chillan: Universidad de Concepcion.
- Galdames, R. (1986). *Estudio de Tachigaren y otros fungicidas en pruebas de invernadero e in vitro para el control de la caida de remolacha*. Chillan: Universidad de Concepcion.
- Gepp y Mondino, V. (17 de Octubre de 2015). Fungicidas penetrantes y sistemicos.
- Harman, Howell, Viterbo, Chet y Lorito. (2004). Trichoderma species-Oporttunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. rev. Microbiology*, 43-56.
- Henriquez y Montealegre, J. (1992). *Control quimico de Sclerotium rolfsi*. Santiago: Agricultura Tecnica.
- Jalil, C. (1997). Evaluacion de Trichoderma y Pirimetanil en el control de Botrytis cinerea en tomate. *Tesis de magister* (pág. 52). Santiago: Pontificia Universidad Catolica de Chile.
- Knight, B. G. (1997). Rastionale and Perspectives on the development of fungicides. *Phytopathology*, 35, 349-369.
- Latorre, B. (1989). Dicarboximidaz:Caracteristicas, usos y limitaciones. En L. Bernardo, *Fungicidas y Nematicidas* (págs. 103-109). Santiago: Pontificia Universidad Catolica de Chile.
- Moreno, Fresnada, Muller y Logo, R. (1990). *Comparacion de distintas tecnicas de difusion en agar para la prueba de productos fungicidas*. La Habana: Instituto de Investigaciones .
- Omann, Z. y. (2007). Trichoderma biocontrol. *gene regulation and Systems Biology*, 227-234.
- Pommer y Lorenz. (1987). Dicaboximide fungicides y Sterol biosynthesis inhibiting piperazina, pyridine and azole fungicides. En P. y Lorenz, *Modern selective fungicides* (págs. 91-95; 182-183). German Democratic Republic.
- Terralia. (2019). Obtenido de https://www.terralia.com/vademecum_de_productos_fitosanitarios_y_nutricionales/view_composition?book_id=1&composition_id=522.
- Thomson, W. T. (1988). *Agricultural chemicals*. United States: Thomson publications.
- Universidad de Chile, F. (2005). *Control biologico e integrado de enfermedades y nematodos en frutales y hortalizas*. Santiago.
- Velasquez y Torres. (2017). Identificacion de enfermedadesd causadas por hongos en cultivoas de Aguas Calientes. Zacatecas: Cirnoc-Inifap.
- Zeiling y Omann. (2007). Trichoderma biocontrol. *Signal transduction Pathaways*, 227-234.