



Compatibilidad de un aislamiento del género *Trichoderma* con ocho fungicidas utilizados en el cultivo de rosa

Compatibility of an isolation of the genus *Trichoderma* with eight fungicides used in the crops of rose

Paulo Germán García Murillo¹ 

Para citar: García, P. (2019). Compatibilidad de un aislamiento del género *Trichoderma* con ocho fungicidas utilizados en el cultivo de rosa. *Redes de Ingeniería*, 10(1), 5-12, doi: <https://doi.org/10.14483/2248762X.15091>.

Recibido: 11-julio-2019 / **Aprobado:** 29-agosto-2019

Resumen

Actualmente, algunas especies del hongo del género *Trichoderma* son empleadas para el control preventivo de enfermedades en hortalizas, frutas y ornamentales, las cuales, tradicionalmente, son manejadas mediante la aplicación de fungicidas, pero con antecedentes de afectación ambiental en algunos casos. Razón por la cual, el propósito de este trabajo fue evaluar en una prueba *in vitro* la compatibilidad del aislamiento USTA-Tri004 de *Trichoderma* con los fungicidas Cabo[®], Sialex[®], Scala[®], Dithane[™], Mirage[®], Teldor[®]-Combi, Clortocaffaro[®] y Bellkute[®], de uso común en Colombia para cultivos de rosa. Con lo cual se encontró que los fungicidas Cabo[®] y Sialex[®] son los que menos inhiben el crecimiento del aislamiento USTA-Tri004 a las 120 horas, con diámetros de colonia de 24.2 cm y 39.3 cm respectivamente. De acuerdo con los resultados anteriores, el aislamiento *Trichoderma* puede ser evaluado en condiciones comerciales, en un esquema de manejo integrado del moho gris en rosa, pero aplicado de forma preventiva con los mencionados fungicidas.

Palabras clave: clorotalonil, control biológico, fenhexamida, procimidona, prochloraz.

Abstract

Currently, some species of the fungus of the genus *Trichoderma* are used for the preventive control of diseases in vegetables, fruits and ornamentals, which are, traditionally, managed through the application of fungicides, but with a history of environmental damage in some cases. Accordingly, the aim of this work was to evaluate in an *in vitro* test, the compatibility of the USTA-Tri004 isolation of the *Trichoderma*, with the fungicides Cabo[®], Sialex[®], Scala[®], Dithane[™], Mirage[®], Teldor[®]-Combi, Clortocaffaro[®] and Bellkute[®], commonly used in Colombia for rose cultivation. It was found that the fungicides Cabo[®] and Sialex[®] offered least inhibitory effect on the growth of USTA-Tri004 insulation at 120 hours of incubation, with colony diameters of 24.2 and 39.3 respectively. According to the results, *Trichoderma* isolation can be considered as a commercial product within an integrated management scheme for gray mold of rose applied in a preventive way with the mentioned fungicides.

Keywords: biological control, chlorothalonil, fenhexamid, procymidone, prochloraz.

1. Magíster en Ciencias Agrarias área de énfasis en Fitopatología, Universidad Nacional de Colombia. Docente de Tiempo Completo, Universidad Santo Tomás. Correo electrónico: pggarciam@unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades causadas por fitopatógenos son, por lo general, controladas mediante el uso de fungicidas de síntesis química. Sin embargo, el mal uso de estos agentes es actualmente cuestionado debido a efectos indeseables, tales como la resistencia que se puede inducir hacia los mismos, un ejemplo de ello es el primer registro en 2019 de resistencia de *B. cinerea* a carbendazim y procimidona en fresa, arándano y tomate en Argentina [1]. Por esta misma línea, el uso de estos agentes químicos reduce las poblaciones de microorganismos no blancos que pueden ser potencialmente benéficos para los cultivos, además de generar tanto contaminación hídrica y de los suelos [2], como posibles riesgos para la salud humana, lo que genera en los consumidores opiniones de rechazo y demanda de productos que involucren prácticas agrícolas más limpias y sostenibles desde el punto de vista ambiental [3].

En respuesta a lo anterior, se propone como alternativa el control biológico mediante el uso de hongos y bacterias antagonistas, en donde se destacan algunas especies del género *Trichoderma*. Este hongo ha demostrado ser altamente efectivo para el control biológico de enfermedades producidas por el moho gris de la *Botrytis cinérea* que afectan a las hojas, los tallos, las flores y los frutos [4]; la marchitez vascular producida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* [5]; y la pudrición de cuello de raíz generada por *Rhizoctonia solani* entre otras [6]. En concordancia con lo dicho, en un trabajo previo se estableció que un aislamiento denominado USTA-Tri004 del género *Trichoderma* presenta alta actividad antagonica contra *B. cinerea* y *Rhizoctonia solani* [6]. Adicionalmente, el uso de algunas especies de *Trichoderma* presenta las siguientes ventajas: baja toxicidad, lo que no compromete la salud humana ni animal; la inducción de crecimiento y resistencia vegetal; la competencia por nutrientes y espacio; y la directa interacción, ya que este hongo es reconocido por ser micoparásito [7].

Por otra parte, no se descarta la compatibilidad de *Trichoderma* con la aplicación de plaguicidas, pero esta depende de la susceptibilidad de cada especie y la cepa de este hongo antagonista frente a los diferentes agentes químicos [8]. Es así como en ensayos *in vitro* se observa la compatibilidad de *Trichoderma* spp., con ingredientes activos de fungicidas como metalaxyl, dimetomorf, y otras sustancias como el oxiclورو de cobre [9]. Razón por la cual, el objetivo de este trabajo fue evaluar *in vitro* la compatibilidad del aislamiento USTA-Tri004 con ocho fungicidas de uso común en el cultivo de la rosa para el control del moho gris causado por *B. cinerea*.

MÉTODOS

El ensayo de compatibilidad del aislamiento USTA-Tri004 de *Trichoderma*, con ocho fungicidas, fue realizado en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Santo Tomas en la sede Principal (Bogotá, Colombia). El mencionado aislamiento fue obtenido de una muestra de suelo procedente de una reserva forestal en el municipio de Tenjo, perteneciente al departamento de Cundinamarca (Colombia). Este microorganismo fue mantenido en cajas de Petri con medio Agar Sabouraud (Oxoid) a una temperatura de 20 °C por 12 días hasta el momento de la realización del ensayo.

Ensayo de compatibilidad del aislamiento USTA-Tri004

Se prepararon 15 cajas de Petri con medio Agar Sabouraud (Oxoid), por tratamiento (correspondiente a cada fungicida), en las dosis sugeridas en las fichas técnicas de cada producto de acuerdo con la Tabla 1, utilizando como tratamiento control el mismo medio de cultivo, pero sin adición de algún fungicida.

Para la inoculación del hongo antagonista, se tomaron cultivos del aislamiento USTA-Tri004, más específicamente discos de 5 mm de la zona más

Tabla 1. Fungicidas empleados en la prueba de compatibilidad in vitro del aislamiento de *Trichoderma* USTA_Tri-004 en medio agar Sabouraud.

Tratamiento	Ingrediente Activo	Dosis ml-g ⁻¹
Sabouraud (Control)	-	-
Sabouraud + Cabo [®] SC-500	fenhexamida	1.0
Sabouraud + Sialex [®] SC-50	procimidona	1.0
Sabouraud + Scala [®] 40-SC	pirimetanil	1.0
Sabouraud + Dithane [™] NT-80-WP	mancozeb	2.0
Sabouraud + Mirage [®] 40-EC	procloraz	0.5
Sabouraud + Teldor [®] Combi	fenhexamida+tebuconazol	1.5
Sabouraud + Clortocaffaro [®] 500-SC	clorotalonil	1.0
Sabouraud + Bellkute [®] 40-WP	iminocadina	0.3

Fuente: elaboración propia.

externa (joven) de cada colonia de *Trichoderma* con la ayuda de un sacabocado estéril. Asimismo, a todas las cajas de Petri, correspondientes a los diferentes tratamientos, se les inoculo en el centro con un disco del aislamiento USTA-Tri004 para luego ser puestas a incubación a 20 °C, de modo que sea posibilitara la opción de cuantificarse el diámetro de colonia del hongo antagonista a las 48 horas y 120 horas.

Cálculo del porcentaje de inhibición.

Para el montaje de este ensayo se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con 15 repeticiones para cada tratamiento incluyendo el control. A partir de las lecturas de los diámetros de colonia del aislamiento USTA-Tri004 obtenidos a las 48 horas y 120 horas se compararon los promedios de cada tratamiento mediante la prueba de diferencia mínima significativa DMS ($p \leq 0.05$) utilizándose para la realización del análisis estadístico el software Statgraphics[®] Centurion XVI.

Del mismo modo, a partir de los diámetros de colonia obtenidos a las 48 horas y 120 horas se calculó para cada tratamiento el porcentaje de inhibición [10], de acuerdo con la ecuación (1):

$$\text{Porcentaje de inhibición} = ((x - y) / x) * 100 \quad (1)$$

En donde:

x = diámetro de la colonia del aislamiento USTA-Tri004 en las cajas de Petri del tratamiento control.

y = diámetro de la colonia del aislamiento USTA-Tri004 en las cajas de Petri, de cada uno de los tratamientos (fungicidas).

RESULTADOS

A las 48 horas el crecimiento de la cepa USTA-Tri004, correspondiente al tratamiento control, alcanzó 3.8 cm de diámetro de colonia. En contraste, pero en presencia de los diferentes fungicidas, se presentó una reducción significativa en el promedio de los diámetros de colonia del hongo de la siguiente manera: a Cabo[®] de 2.1 cm y de 1.7 cm para el producto Sialex[®]; de 1.1 cm para Teldor[®] Combi y 0.8 cm para el producto Bellkute[®], y sin evidencia de crecimiento del hongo los fungicidas Scala[®], Dithane[™], Clortocaffaro[®] y Mirage[®] (Figura 1).

A las 120 horas, el crecimiento micelial del aislamiento USTA-Tri004 alcanza la totalidad de la superficie de las cajas de Petri en el tratamiento control (Figura 2), con diámetro promedio de colonia de 9.0 cm, a diferencia de todos los demás tratamientos

correspondientes a cada uno de los fungicidas, lo cuales, en el mismo periodo de tiempo, presentaron una reducción significativa de sus diámetros de colonia del aislamiento USTA-Tri004. Sin embargo, con los fungicidas Cabo® y Sialex® se observa la menor inhibición de diámetros de colonia en relación con los demás tratamientos de los fungicidas, siendo estos de 6.8 cm y 5.5 cm respectivamente. Con los fungicidas Scala®, Dithane™ y Teldor® Combi,

se observó una mayor reducción de los diámetros del aislamiento, en comparación al primer grupo de fungicidas, presentando valores de 3.1, cm, 2.5 cm y 2.0 cm respectivamente. Los menores valores de colonia del aislamiento USTA-Tri004 corresponden a los tratamientos de los fungicidas Clortocaffaro® con 1.1 cm, Bellkute® con 1.0 cm y Mirage® que no registra ningún valor de diámetro de colonia del mencionado aislamiento (Figura 2).

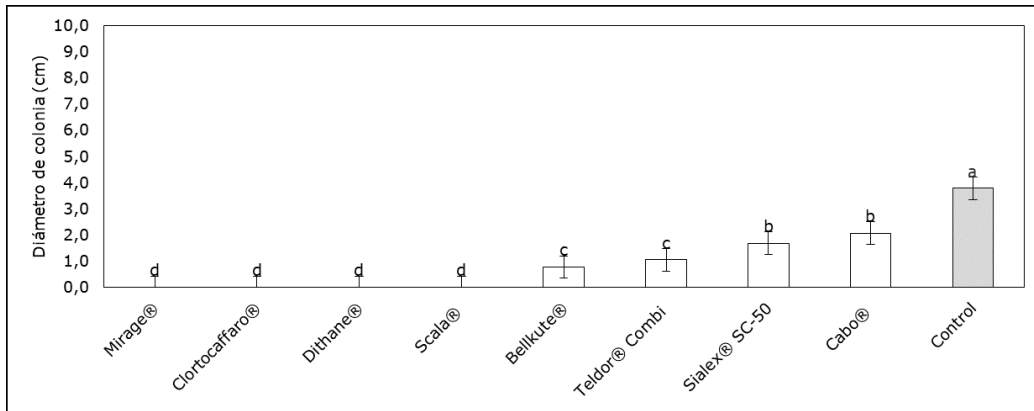


Figura 1. Crecimiento in vitro del aislamiento USTA-Tri004 a las 48 h, en presencia de ocho fungicidas utilizados para el control del moho gris en rosa.

Nota: Las columnas con la misma letra, no presentan diferencias significativas en relación con los promedios de diámetro de colonia, de acuerdo con la prueba de diferencia mínima significativa DMS ($p \leq 0.05$).

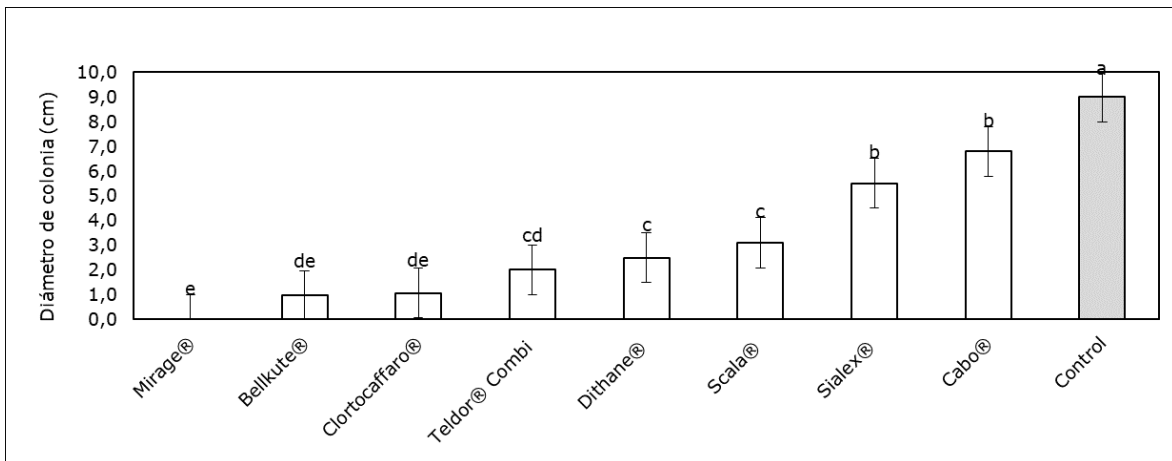


Figura 2. Crecimiento in vitro del aislamiento USTA-Tri004 a las 120 h, en presencia de ocho fungicidas utilizados para el control del moho gris en rosa.

Fuente: elaboración propia.

Nota: Las columnas con la misma letra, no presentan diferencias significativas en relación con los promedios de diámetro de colonia, de acuerdo con la prueba de diferencia mínima significativa DMS ($p \leq 0.05$).

Al comparar los valores de porcentaje de inhibición obtenidos a las 48 horas con los obtenidos a las 120 horas, se evidencia como todos los tratamientos, a excepción de los fungicidas Teldor®-Combi y Bellkute®, redujeron sus porcentajes de inhibición. Sin embargo, para el caso del tratamiento correspondiente a Mirage® se mantiene la inhibición total del crecimiento del aislamiento, tanto al inicio del ensayo como al final de este (Tabla 2).

Tanto a las 48 horas como a las 120 horas, de acuerdo con la clasificación propuesta en la Tabla 3, el fungicida Mirage® ejerce un alto nivel inhibitorio del aislamiento USTA-Tri004. Por su parte, los fungicidas Scala®, Dithane® y Clortocaffaro® también presentan alta toxicidad sobre el aislamiento del hongo antagonista a las 48 h, pero a las 120 horas desciende a moderadamente tóxico con el fungicida Clortocaffaro® y ligeramente tóxico con Dithane® y Scala® respectivamente (Tabla 3).

Con el producto Bellkute® se obtuvo una moderada toxicidad tanto al inicio del ensayo (48 horas) como al final de este (120 horas). Con los fungicidas Teldor®Combi, Sialex® y Cabo® se presenta una clasificación de ligeramente tóxico a las 48 horas, el cual decae para el fungicida Cabo® a las 120 horas hasta inofensivo (Tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de la toxicidad de los fungicidas de acuerdo al valor del crecimiento de la colonia del aislamiento USTA-Tri004.

Inhibición del crecimiento (%)	Clasificación
<30%	Inofensivo
30-75%	Ligeramente tóxico
75-90%	Moderadamente tóxico
>90%	Tóxico

Fuente: adaptado de OILB [10].

DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados, el ingrediente activo fenhexamida (Cabo®) presentó los menores porcentajes de inhibición tanto a las 48 horas como a las 120 horas, esto coincide con otra investigación en la cual se evaluaron las cepas de TH₁, TH₃ y TV₁ del género *Trichoderma* encontrándose una compatibilidad significativamente alta con la misma molécula. No obstante, estas mismas cepas presentan alta sensibilidad en presencia de chlorothalonil [11], lo cual es concordante con los resultados encontrados en este trabajo para el aislamiento USTA-Tri004. Cabe resaltar que la fenhexamida inhibe el crecimiento de *B. cinerea* debido a que esta molécula interfiere con la síntesis de esteroides y con la actividad de la ketoreductasa [12].

Los resultados obtenidos con la molécula procimidona, la cual es ingrediente activo del producto

Tabla 2. Inhibición presentada por el aislamiento USTA-Tri004 de *Trichoderma* en presencia de 8 fungicidas.

% de inhibición (<i>in vitro</i>) aislamiento USTA-Tri004			
Producto	Ingrediente activo	48 horas	120 horas
Cabo®	Fenhexamida	46.0	24.2
Sialex®	procimidona	56.0	39.3
Scala®	Pirimetanil	100.0	65.2
Dithane®	Mancozeb	100.0	72.0
Teldor®Combi	fenhexamida+tebuconazol	72.2	78.0
Clortocaffaro®	Clorotalonil	100.0	88.1
Bellkute®	Iminoctadina	80.0	89.3
Mirage®	Procloraz	100.0	100.0

Fuente: elaboración propia.

Sialex[®], son similares a los encontrados en la aplicación conjunta de la cepa C52 de *Trichoderma harzianum* y el ingrediente activo mencionado para el manejo de *Sclerotium cepivorum* en cebolla [13], donde no se observó disminución en la actividad del mencionado hongo antagonista ni del fungicida contra este fitopatógeno. Esto, permitiría hacer aplicaciones de este agente de control biológico con dosis menores de este fungicida, el cual tendría menores afectaciones desde el punto de vista ambiental [13]. En otro ensayo, sin embargo, se hizo la aplicación de procimidona más la cepa IBLF914 de *Trichoderma asperellum* contra *S. sclerotiorum* en lechuga, donde se encontró que el fungicida reduce la viabilidad tanto del hongo antagonista como del fitopatógeno en mención [14]. Lo anterior, deja ver como la molécula procimidona actúa sobre los microorganismos fitopatógenos presentando interferencia sobre la transducción de señales de las membranas celulares de los hongos, pero su uso inadecuado puede generar fenómenos de resistencia en *B. cinerea* y en otros hongos fitopatógenos [12].

En otros trabajos de investigación, se evaluó la compatibilidad de la cepa Jn14 de *T. harzianum* con la molécula de pirimetanil utilizada para el control del moho gris en fresa. La mencionada cepa, tanto en ensayos *in vitro* como *in vivo* (bajo condiciones de invernadero), es tolerante al pirimetanil, en contraste con *B. cinerea* que presenta alta sensibilidad hacia este agente químico [15]. Sin embargo, en este ensayo el fungicida Scala[®] (i. a. pirimetanil) presenta una reducida compatibilidad con el aislamiento USTA-Tri004 de *Trichoderma*. Cabe resaltar que este ingrediente activo inhibe la síntesis de proteínas y aminoácidos en los hongos expuestos a este agente químico, por lo que se observa una resistencia a esta molécula por parte de *B. cinerea* y *Venturia* principalmente [12].

Al respecto, sobre la inhibición de crecimiento del aislamiento USTA-Tri004 en este trabajo, al ser

expuesto al fungicida DithaneTM (i. a. mancozeb) fue del 72% a las 120 horas, la cual fue mayor a la observada en otro trabajo de investigación [9], en el cual se obtuvo aproximada 46.9% de inhibición en *Trichoderma* spp., a los 5 días, pero con una dosis de 100 mg i.a.*l⁻¹. En concordancia con lo dicho, en otra evaluación *in vitro* con una cepa denominada A-34 de *Trichoderma harzianum* se obtuvo con el mismo fungicida una escala ligeramente tóxica [10].

En cuanto a procloraz, en un ensayo *in vitro* realizado con un aislamiento de *T. harzianum* se observó una inhibición total de este hongo antagonista, lo cual coincide con los resultados obtenidos en este ensayo a la misma dosis del fungicida [16]. La inhibición observada sobre el aislamiento USTA-Tri004 en presencia de esta molécula se puede atribuir a que esta interfiere con la biosíntesis de esteroides en la membrana celular que también se observa en *B. cinerea* [12].

Los resultados obtenidos con el producto Teldor[®] Combi corresponden a ligeramente tóxico y moderadamente tóxico respectivamente a las 48 horas y 120 horas (tabla 2 y 3). Estas se pueden explicar a luz de la acción de la molécula tebuconazol, perteneciente al grupo químico de los triazoles, los cuales también reducen la síntesis de esteroides en las membranas celulares [12].

Como se mencionó anteriormente, el aislamiento USTA-Tri004 en presencia de iminoctadina presenta una escala de moderadamente tóxico (Tabla 3) observándose poca compatibilidad. Lo anterior también se observó en un ensayo realizado en cultivo, en donde se aplicó en mezcla *T. harzianum* con iminoctadina para el control de la pudrición parda en durazno. Ante ello, se encontraron diferencias estadísticamente significativas con la aplicación individual del agente químico debido a la interferencia del fungicida, tanto sobre el desarrollo del fitopatógeno, como del hongo antagonista [17].

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos sugieren que las moléculas de fenhexamida y procimidona, las cuales son ingredientes activos (i. a.) de los fungicidas Cabo® y Sialex® respectivamente, son compatibles con el crecimiento micelial del aislamiento de USTA-Tri004 de *Trichoderma*, por lo que se sugiere realizar ensayos bajo condiciones de invernadero con los mencionados fungicidas en combinación con el hongo antagonista para el posible control de *B. cinerea* en aplicaciones de tipo preventivo. Los restantes fungicidas, inhiben el crecimiento del aislamiento USTA-Tri004, lo que los hace incompatibles para su uso combinado, para el manejo del moho gris y otras enfermedades bajo condiciones comerciales de producción de la rosa.

REFERENCIAS

- [1] F. J. Sautua, C. Baron, O. Pérez-Hernández, and M. A. Carmona, "First report of resistance to carbendazim and procymidone in *Botrytis cinerea* from strawberry, blueberry and tomato in Argentina," *Crop Prot.*, vol. 125, no. July, pp. 2017–2020, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104879>
- [2] S. Saito and S. Suzuki, "Fungicide Resistant Profiles of *Botrytis cinerea* in a Vineyard," *J. Asev Jpn*, vol. 20, no. 1, pp. 8–14, 2009.
- [3] M. H. Badii and J. Landeros, "Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad," *CULCyT*, no. 19, pp. 21–34, Mar. 2007.
- [4] Pratibha Sharma, "Biocontrol genes from *Trichoderma* species: A review," *African J. Biotechnol.*, vol. 10, no. 86, pp. 19898–19907, 2011. <https://doi.org/10.5897/ajbx11.041>
- [5] P. G. García, A. M. Pascuas, and E. Garces-de-Granada, "Effect of two *Trichoderma* spp. isolates on *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in carnation (*Dianthus caryophyllus*)," *Acta Hort.*, vol. 482, no. 153–157, 1999. <https://doi.org/10.17660/actahortic.1999.482.22>
- [6] P. G. Garcia-Murillo, "Evaluación de tres aislamientos del género *Trichoderma*, en combinación con pregerminación controlada de semillas, contra *Botrytis cinerea* y *Rhizoctonia solani*," *Actual. Biológicas*, vol. 36, pp. 236–337, 2014.
- [7] P. K. Mukherjee, B. A. Horwitz, A. Herrera-Estrella, M. Schmoll, and C. M. Kenerley, "*Trichoderma* Research in the Genome Era," *Annu. Rev. Phytopathol.*, vol. 51, no. 1, pp. 105–129, 2013. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102353>
- [8] B. Martínez, D. Infante, and Y. Reyes li, "*Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos," *Rev. Protección Veg*, vol. 28, no. 1, pp. 1–11, 2013.
- [9] B. L. Muiño, M. Sáenz, M. Stefanova, A. Porrás, and I. Díaz, "Compatibilidad de *Trichoderma* spp. con plaguicidas y fertilizantes en el cultivo del tabaco," *Fitosanidad*, vol. 5, no. 2, pp. 3–9, 2001.
- [10] R. H. Pérez and D. G. Sánchez, "Efecto in vitro de plaguicidas comerciales sobre *Trichoderma harzianum* cepa A- 34," *Rev. FCA UNCUYO*, vol. 47, no. 2, pp. 185–196, 2015.
- [11] W. Khirallah *et al.*, "Compatibility of *Trichoderma* spp. with some fungicides under in vitro conditions," *Int. J. Recent Sci. Res.*, vol. 7, no. 2, pp. 9060–9067, 2016.
- [12] FRAC, "FRAC Code List © * 2018 : Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering)," 2018. [Online]. Available: <http://www.phi-base.org/images/fracCodeList.pdf>. [Accessed: 16-Mar-2019].
- [13] K. L. Mclean, J. Hunt, and a Stewart, "Compatibility of the Biocontrol Agent *Trichoderma Harzianum* C52 With Selected Fungicides," *In Vitro*, vol. 88, pp. 84–88, 2001. <https://doi.org/10.30843/nzpp.2001.54.3780>
- [14] M. A. F. da Silva, K. E. de Moura, K. E. de Moura, D. Salomão, and F. R. A. Patrício, "Compatibility of *Trichoderma* isolates with pesticides used in lettuce crop," *Summa Phytopathol.*, vol.

- 44, no. 2, pp. 137–142, 2018. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/176873>
- [15] R. M. Barakat and M. I. Al-masri, “Effect of *Trichoderma harzianum* in Combination with Fungicides in Controlling Gray Mould Disease (*Botrytis cinerea*) of Strawberry,” *Am. J. Plant Sci.*, no. 8, pp. 651–665, 2017. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.84045>
- [16] M. A. Sushir, K. K. Suryawanshi, and S. P. Patole, “Sensitivity of *Trichoderma harzianum* Rifai against systemic fungicides,” *Int. J. Appl. Res.*, vol. 1, no. 7, pp. 403–405, 2015.
- [17] E. P. Pavanello, A. Brackmann, F. R. Thewes, T. L. Venturini, A. Weber, and E. Blume, “Postharvest biological control of brown rot in peaches after cold storage preceded by preharvest chemical control,” *Rev. Ceres*, vol. 62, no. 6, pp. 539–545, 2015. <https://doi.org/10.1590/0034-737x201562060005>

