

Efecto *in vitro* de plaguicidas comerciales sobre *Trichoderma harzianum* cepa A- 34

***In vitro* effect of comercial pesticides on *Trichoderma harzianum* strain A- 34**

Leónides Castellanos González ¹, María E. Lorenzo Nicao ², Berta Lina Muiño ³,
Ricardo Hernández Pérez ⁴, Dagoberto Guillen Sánchez ⁵

Originales: *Recepción*: 30/06/2014- *Aceptación*: 31/07/2015

RESUMEN

El trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto *in vitro* de seis plaguicidas comerciales sobre el crecimiento micelial, la esporulación y la germinación de los conidios de *Trichoderma harzianum* cepa A-34. El ensayo fue llevado a cabo 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 al considerar el valor T se clasifica a zineb, como muy tóxico, y a mancozeb y folpet como moderadamente tóxicos, mientras que los insecticidas resultaron no tóxicos. Los fungicidas afectan la germinación de los conidios del antagonista pero los insecticidas no.

Palabras clave

biocontrol • fungicidas • insecticida • manejo integrado • antagonista

-
- 1 Centro de Estudios para la Transformación Agraria Sostenible (CETAS). Universidad de Cienfuegos. Carretera a Rodas km 4. Cienfuegos. Cuba. lcastellanos@ucf.edu.cu
 - 2 Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Cienfuegos. Carretera de Palmira km 4. Cienfuegos. Cuba.
 - 3 Instituto de Investigación de Sanidad Vegetal (INISAV). Calle 110 y 5ta F. Marianao. La Habana. Cuba; bertam@inisav.cu
 - 4 Centro Agrobiotecnológico (CAB). Proveedor Fitozoosanitaria SA de CV. Emiliano Zapata No.10, 3 int. San L. Huexotla. Texcoco. Estado de México. Autor para correspondencia: santaclara57@yahoo.es
 - 5 Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Nicolás Bravo s/n, Parque Industrial Cuautla, Xalostoc, Ayala, Morelos, CP. 62740 México. dagoguillen@yahoo.com

ABSTRACT

The work aims to evaluate the *in vitro* effect of six commercial pesticides on the mycelia growth, the spore production and conidia germination of *Trichoderma harzianum* strain A-34. The assay was carried out with the following products: folpet (Folpam 80 PH), zineb (Zineb 80 PH), mancozeb (Mancozeb 75 PH), cipermetrina (Cipermetrina 10 EC), lambda cialotrina (Karate 5 EC) and abamectina (Abamectin 1.8 EC) to the concentrations of 10, 100, 200, 500, 1000 and 2000 mg L⁻¹. The growth inhibition of the fungus colony, the effect of the pesticides on the spore production and the conidia germination were evaluated. The pesticides were classified according to their toxicity on the antagonist by the OILB scale and their compatibility according to the T value. The folpet, mancozeb and zineb fungicides, and the abamectina insecticide have inhibitory effect on the growth of the mycelia of the fungus *T. harzianum*, and they are classified as lightly toxic. However, when considering the T value, zineb is classified as very toxic, and mancozeb and folpet as moderately toxic, while the insecticides are not toxic to the antagonist. Fungicides affect the germination of the antagonist's conidia but insecticides do not.

Keywords

biocontrol • fungicides • insecticides • integrated management • antagonist

INTRODUCCIÓN

Las aplicaciones indebidas e indiscriminadas de plaguicidas han sido objeto de numerosas restricciones en varios países donde existe una fuerte presión por parte de los consumidores que exigen la limitación del uso de estos productos (1). El empleo de medios biológicos como parasitoides, depredadores y antagonistas han sido alternativas para esta problemática.

Las especies de hongos del género *Trichoderma* se destacan como antagonistas de gran efectividad contra microorganismos fitopatógenos habitantes del suelo, que afectan los cultivos de tabaco, tomate y pimiento (20), trigo (15), entre otros.

Trichoderma se recomienda como biocontrol de agentes patógenos foliares en tomate (17); así como para controlar *Pseudoperonospora cubensis* Burt. v Curt. y *Erisiphe cichoracearum* D.C en el cultivo de pepino (18).

Se ha recomendado además, para el control de fitopatógenos en semilla de frijol, lechuga y arroz (9), y para tratamientos foliares y al suelo en frijol (10).

En la literatura no abundan estudios científicos sobre el efecto de los plaguicidas sobre *Trichoderma*, aunque se ha informado sobre la compatibilidad de algunos plaguicidas y fertilizantes que se emplean en el cultivo del tabaco sobre *Trichoderma* spp. (14).

Fueron evaluados siete fungicidas sistémicos, dos fungicidas de contacto y cuatro biopesticidas en cuanto a la inhibición del crecimiento radial de *T. harzianum*. Dentro de ellos los fungicidas sistémicos derivados de los benzimidazoles resultaron más tóxicos que los de contacto, mientras que los insecticidas probados, quinalfos y dicofol mostraron toxicidad, incluso con baja concentración (19).

Otros autores (16), midieron la compatibilidad de varios herbicidas utilizados en arroz con tres cepas de *T. asperellum*, así como Franco *et al.*, 2013, quienes evaluaron la compatibilidad de especies nativas de *Trichoderma* con fungicidas que son empleados frecuentemente para el tratamiento de las semillas: Carboxin + Thiram, Carbendazim + Thiram, Metiltiofanato + Thiram y Tebuconazole.

Otros resultados han demostrado la posibilidad de usar a *T. harzianum* cepa A-34 para el control de *Pseudoperonospora cubensis* Burt. v Curt en pepino en cultivos protegidos (6).

A estas plantaciones en casas de cultivo se les realizan tratamientos químicos con fungicidas, insecticidas y acaricidas, sin que se conozcan las interferencias de los plaguicidas sobre *T. harzianum*, por lo que surge la hipótesis de que los plaguicidas empleados pueden estar afectando el antagonista por su acción tóxica sobre el crecimiento y desarrollo del hongo, y la germinación de los conidios.

Objetivo

Determinar el efecto *in vitro* de seis plaguicidas comerciales, sobre el crecimiento micelial, la esporulación y la germinación de los conidios de *Trichoderma harzianum* cepa A-34.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionó tres fungicidas, folpet (ftalimida) (Folpam 80 PH), mancozeb (ditiocarbamato) (Mancozeb 75 PH) y zineb (ditiocarbamato) (Zineb 80 PH) y tres insecticidas: cipermetrina (piretroide) (Cipermetrina 10 EC), lambda cialotrina (piretroide) (Karate 5 EC) y abamectina (avermectina) (Abamectina 1,8 EC), los cuales se emplean con frecuencia para el control de plagas y enfermedades en cultivos hortícolas tanto en condiciones de campo como en los cultivos protegidos, según las recomendaciones del Centro Nacional de Sanidad Vegetal (5) (tabla 1).

Tabla 1. Grupos químicos de plaguicidas, empleados con frecuencia para el control de plagas y enfermedades en cultivos hortícolas que se siembran en Cuba, autorizados por el Centro Nacional de Sanidad Vegetal en 2008.

Table 1. Chemical groups of pesticides frequently used to control pests and diseases in horticultural crops grown in Cuba, authorized by the National Center for Plant Health in 2008.

| Fungicidas | Grupo químico | Nombre comercial | Concentración recomendada |
|---------------------|----------------|--------------------|---------------------------|
| Mancozeb | Ditiocarbamato | Mancozeb PH 75 | 2000 mg.L ⁻¹ . |
| Folpet | Ftalimida | Folpam PH 80 | 2000 mg.L ⁻¹ . |
| Zineb | Ditiocarbamato | Zineb PH 80 | 2000 mg.L ⁻¹ . |
| Insecticidas | | | |
| Cipermetrina | Piretroide | Cipermetrina EC 10 | 100 mg.L ⁻¹ . |
| Lambda cialotrina | Piretroide | Karate 5 EC | 100 mg.L ⁻¹ . |
| Abamectina | Avermectina | Abamectina EC 1.8 | 200 mg.L ⁻¹ . |

Para los ensayos fue considerado el antagonista *T. harzianum* cepa A-34 procedente de la colección del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos, la cual se usa ampliamente en Cuba como antagonista fúngico de fitopatógenos tales como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y especies de *Pythium* y *Phytophthora* en diversos cultivos (7). Esta cepa fue conservada a 9°C en placas Petri con medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA).

Las concentraciones de los químicos se prepararon en agua estéril a partir de una solución madre de 5000 mg L⁻¹ i.a. de cada producto, de las cuales se derivaron las diluciones de menor concentración que fueran 2,5 veces superior a las que se iban a estudiar.

Se utilizó un medio de cultivo agar-papa-dextrosa de marca Biocen a razón de 50 g L⁻¹ de agua, regulándose el pH a 5,5. Los medios se prepararon con 90 mL de agua en erlerymeyer's aforados de 150 mL, esterilizándose en autoclave por 15 minutos a 121°C, luego se dejaron enfriar hasta 45°C y se añadieron 60 mL de las diluciones de cada producto hasta obtener el rango de concentraciones de estudio de 10, 100, 200, 500, 1000 y 2000 mg L⁻¹. Se incluyó un tratamiento control, con medio de cultivo sin producto químico (testigo) solo con adición de 60 mL de agua destilada estéril. Los medios envenenados y el del testigo se extendieron (30 mL) en placas de Petri de 9 cm de diámetro, sobre las que se ubicaron discos de 0,5 cm de diámetro de los cultivos del hongo de cinco días de edad.

Los siete tratamientos se dispusieron en un diseño completamente aleatorizado por cada concentración con 5 repeticiones (placas de Petri).

Las placas se incubaron a 27°C en oscuridad y la evaluación se realizó a los 10 días, la cual consistió en medir el

diámetro de la colonia del hongo con una regla milimetrada. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de inhibición radial del crecimiento en placas de los tratamientos respecto del control. Para lo cual se aplicó la siguiente fórmula (21):

$$\text{Porcentaje de Inhibición} = ((X - Y) / X) \times 100$$

donde

X = diámetro de la colonia en la placa control

Y = diámetro de la colonia en la placa tratada

Con la información de los porcentajes de inhibición del hongo por concentración, se realizó análisis de varianza unifactorial entre los diferentes plaguicidas para lo cual los datos se transformaron en arcosen \sqrt{p} , al no comprobarse la normalidad por la prueba de Komodorov Smirnov.

Se empleó el paquete estadístico SPSS para Windows versión 15. Las medias fueron comparadas por el test de Tuckey al 5% de probabilidad de error.

Se determinó los valores de DL-50 según la curva de regresión dosis del producto/porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo a los 10 días de iniciado los ensayos, para lo cual se trabajó con un nivel de probabilidad de error del 5%.

Se clasificó la toxicidad de cada plaguicida con los valores de inhibición del crecimiento de la colonia obtenidos a los 10 días a la concentración de campo de cada producto (tabla 1, pág. 187) (5), para lo que se utilizó la escala de clasificación establecida por la Organización Internacional de Lucha Biológica (OILB) (tabla 2, pág. 189) (22).

Para medir el efecto de cada producto sobre la capacidad de formación de esporas, se preparó los medios de cultivos envenenados de forma similar a como se describió anteriormente.

Tabla 2. Clasificación de la toxicidad de los plaguicidas según el valor de inhibición sobre el crecimiento de la colonia de los hongos de acuerdo con la OILB (22).

Table 2. Pesticide's toxicity classification according to the inhibition values on the fungi colony growth as mentioned by OILB (22).

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

Se realizó de forma similar, siembras del hongo en el centro de las placas y se pusieron a incubar a 27°C.

El parámetro medido como indicador del efecto sobre la cantidad de conidios formados, fue la concentración de esporas. Para lo cual se tomó a los 10 días un disco de 0,5 cm de diámetro del hongo por placa y se colocó en 2 mL de agua destilada estéril con Tween 80 a 0,01%.

A continuación se preparó una suspensión de esporas por el método de barrido de la colonia, la cual se llevó a un volumen final de 30 mL con agua destilada estéril en tubos de ensayos de 160 x 20 mm.

Cada tubo con su contenido se colocó durante 30 segundos en un agitador Vortex y posteriormente se realizaron los conteos (conidios/mL) en la cámara de Neubauer. Se calculó cuánto representó (en porcentaje) la esporulación del hongo para cada plaguicida por concentración, en relación con el testigo sin envenenar

La compatibilidad de cada fungicida sobre el hongo de biocontrol se calculó según el valor T (2), empleando los parámetros evaluados: porcentaje de inhibición del crecimiento y el efecto sobre la capacidad de formar esporas a través de la fórmula:

$$T = (20[CV] + 80[ESP]) / 100$$

donde

T = valor corregido para la clasificación del producto

CV= porcentaje de crecimiento vegetativo del tratamiento con relación al testigo

ESP= porcentaje de esporulación del tratamiento con relación al testigo

Los valores de T se clasificaron según la escala establecida (tabla 3):

Tabla 3. Escala de compatibilidad a partir del valor T de acuerdo con Alves *et al.*, 1998.

Table 3. Compatibility scale taking into account the T value according to Alves *et al.*, 1998.

| | |
|---------|----------------------|
| 0 a 30 | Muy tóxico |
| 31 a 45 | Tóxico |
| 46 a 60 | Moderadamente tóxico |
| > 60 | Compatible |

Se determinó el efecto de cada producto sobre la germinación de los conidios del hongo antagonista, para lo cual se empleó portaobjetos sobre los cuales se colocaron 0,5 mL del medio de cultivo con las diferentes concentraciones de cada producto. Luego se le añadió 0,1 ml de una suspensión conidial de 10^8 conidios/mL y se incubaron a 27°C en la oscuridad.

Se empleó cinco portaobjetos (repeticiones) por variante, los cuales se mantuvieron en cámaras húmedas dentro de placas de Petri. El porcentaje de germinación se determinó a las 24 horas por medio de un microscopio óptico, marca Olympus con aumento (400 X), contándose 100 conidios por cada repetición.

RESULTADOS

En la tabla 4 se muestra el porcentaje de inhibición sobre el crecimiento *in vitro* de la colonia de *T. harzianum* cepa A-34. Todos los productos tuvieron efecto

inhibitorio desde concentraciones de 10 mg L^{-1} excepto folpet.

Se destacó el efecto elevado de zineb (22,0 - 65,5%) con diferencia estadística con todos los productos. Este fungicida manifestó en todas las concentraciones estudiadas el mayor efecto inhibitorio sobre el hongo, sin diferencia estadística a 200 mg L^{-1} con folpet, mancozeb.

Se observó un nivel similar de inhibición de abamectina a 200 mg L^{-1} (concentración de campo de este plaguicida) con relación a los tres fungicidas, pero superior a los dos insecticidas piretroides que se emplean a una concentración de campo de 100 mg L^{-1} .

Cuando se empleó la concentración máxima 2000 mg.L^{-1} , (concentración de campo de los fungicidas) folpet, obtuvo valores elevados de inhibición del hongo (61,1%), muy cercanos pero con diferencia significativa con zineb que fue el que produjo mayor inhibición.

Tabla 4. Porcentaje de inhibición *in vitro* del crecimiento micelial del hongo *Trichoderma harzianum* cepa A-34 tratado con diferentes plaguicidas.

Table 4. Percentage of *in vitro* inhibition colony growth of *T. harzianum* strain A-34 treated with different pesticides.

| Plaguicidas | Concentración (mg L^{-1}) | | | | | |
|------------------------------|--------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 10 | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 |
| Fungicidas | ------%----- | | | | | |
| Mancozeb | 9,3 e | 23,3 b | 36,0 a | 48,0 b | 52,0 b | 52,8 c |
| Folpet | 0,0 e | 21,1 d | 36,6 a | 36,6 f | 39,6 e | 61,1 b |
| Zineb | 22,0 a | 31,1 a | 36,3 a | 61,2 a | 64,4 a | 65,5 a |
| Insecticidas | | | | | | |
| Cipermetrina | 13,3 d | 25,3 b | 32,2 b | 45,5 c | 47,7 c | 61,1 b |
| Lambda cialotrina | 19,3 b | 20,4 d | 26,1 c | 42,0 d | 46,7 c | 50,5 d |
| Abamectina | 15,8 c | 25,6 b | 36,5 a | 40,2 e | 42,6 d | 47,9 e |
| Coeficiente de variación (%) | 15,8 | 13,7 | 12,6 | 7,8 | 8,9 | 5,7 |
| Error Estándar * | 0,029 | 0,017 | 0,022 | 0,034 | 0,033 | 0,026 |

*Letras desiguales por columnas difieren para $p \leq 0,05$ según la prueba de Tukey.

* Letters unequal for columns differ for $p \leq 0.05$ according to Tukey test.

A esta concentración el insecticida cipermetrina también mostró elevada inhibición del hongo (61,1%) sin diferencia estadística con folpet pero hay que considerar que su concentración de uso en campo es 20 veces menor que la de los fungicidas.

En la tabla 5 se resume los valores de DL-50 de los plaguicidas y el efecto inhibitorio del crecimiento micelial a los 10 días sobre el hongo *T. harzianum*. Las ecuaciones de regresión lineal obtenidas arrojaron coeficientes de determinación significativos y superiores a 0,71 para todos los productos y permitieron estimar para el fungicida zineb la mayor DL-50 (1136 mg L⁻¹), resultando inferiores a este valor para los demás fungicidas y obviamente inferior a la dosis de campo (2000 mg L⁻¹). Para el caso de los insecticidas estudiados la DL-50 resultó mayor a 2000 mg L⁻¹, muy superior a la concentración de empleo en campo.

La clasificación de la toxicidad de los plaguicidas sobre *T. harzianum* a las dosis de campo es mostrada en la

tabla 6 (pág. 192). En el ensayo, todos los productos estudiados manifestaron algún nivel de toxicidad respecto de la inhibición del crecimiento micelial a la dosis de campo sobre la cepa A- 34.

Los tres fungicidas folpet, mancozeb y zineb y el insecticida abamectina, se ubicaron en la clasificación de ligeramente tóxico, debido al nivel de inhibición del micelio (52-65%), fueron clasificados como inofensivos los insecticidas cipermetrina y lambda cialotrina, por la escala de la OILB (22).

Como se observa en la tabla 7 (pág. 192) la esporulación *in vitro* de *T. harzianum* cepa A-34 a los 10 días difiere con las concentraciones de los formulados.

El fungicida zineb tuvo un drástico efecto inhibitorio desde 100 mg L⁻¹ y luego obtuvo máxima inhibición de la esporulación a partir de la concentración de 500 mg L⁻¹, lo que evidentemente justifica la gran toxicidad de este fungicida, por encima del resto de los productos, agregándose a esto el gran efecto inhibitorio del crecimiento del micelio exhibido previamente.

Tabla 5. Valores de la DL-50 de los plaguicidas para *Trichoderma harzianum* cepa A-34 de acuerdo a la inhibición del crecimiento micelial a los 10 días de cultivo.

Table 5. Pesticides DL-50 values for *Trichoderma harzianum* strain A-34 according to the mycelial growth inhibition after 10 days culture.

| Plaguicidas | Ecuación de regresión | Coefficiente de determinación R ² | DL-50 (mg L ⁻¹) |
|---------------------|-----------------------|--|-----------------------------|
| Fungicida | | | |
| Mancozeb | Y=0,6473X+3,0779 | 0,9682 | 923,5 |
| Folpet | Y=2,1366X-1,1909 | 0,8121 | 773,01 |
| Zineb | Y=0,6170X+3,3330 | 0,7152 | 1136,68 * |
| Insecticidas | | | |
| Cipermetrina | Y=0,5771X+3,2990 | 0,9774 | >2000 |
| Lambda cialotrina | Y=0,4331X+3,5342 | 0,8323 | >2000 |
| Abamectina | Y=0,4210X+3,5813 | 0,9678 | >2000 |

* Significación estadística para p ≤ 0,05.

* Statistical significance at p ≤ 0.05.

Tabla 6. Clasificación toxicológica de los diferentes plaguicidas sobre *Trichoderma harzianum* cepa A-34 a las concentraciones de campo.**Table 6.** Toxicological classification of different pesticides on *Trichoderma harzianum* A-34 at field concentrations.

| Plaguicidas | Toxicidad (OILB) | |
|---------------------|--------------------------------|--------------------|
| | Inhibición del crecimiento (%) | Clasificación |
| Fungicidas | | |
| Mancozeb | 52,8 | Ligeramente tóxico |
| Folpet | 61,1 | Ligeramente tóxico |
| Zineb | 65,5 | Ligeramente tóxico |
| Insecticidas | | |
| Cipermetrina | 25,3 | Inofensivo |
| Lambda cialotrina | 20,4 | Inofensivo |
| Abamectina | 36,5 | Ligeramente tóxico |

Escala: <30% inofensivo; 30-75% ligeramente tóxico; 75-90% moderadamente tóxico; mayor de 90% tóxico.

Scale: < 30% inoffensive; 30-75% lightly toxic; 75-90% moderately toxic; older than 90% toxic.

Tabla 7. Esporulación *in vitro* de *Trichoderma harzianum* cepa A-34 a los 10 días y porcentaje de inhibición respecto del control con diferentes concentraciones de plaguicidas.**Table 7.** *Trichoderma harzianum* strain A-34 *in vitro* sporulation and inhibition percentage comparing the different pesticides and different concentrations to the control.

| Plaguicidas | Concentración (mg L ⁻¹) | | | | | |
|---------------------------------|--------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | 10 | 100 | 200 | 500 | 1000 | 2000 |
| | -----conidios.mL ⁻¹ ----- | | | | | |
| Mancozeb | 1,6x10 ⁷ | 1,8x10 ⁷ | 1,1x10 ⁷ | 1,1x10 ⁷ | 1,1x10 ⁷ | 1,1x10 ⁷ |
| (%) respecto del control | 84,2 | 94,73 | 57,89 | 57,89 | 57,89 | 57,89 |
| Folpet | 8,0x10 ⁷ | 9,3x10 ⁷ | 7,0x10 ⁷ | 7,0x10 ⁷ | 7,8x10 ⁷ | 6,2x10 ⁷ |
| (%) respecto del control | 81,63 | 94,89 | 71,42 | 71,42 | 79,59 | 63,26 |
| Zineb | 6,0x10 ⁷ | 1,4x10 ⁷ | 2,0x10 ⁷ | 0 | 0 | 0 |
| (%) respecto del control | 100 | 23,33 | 33,33 | 0 | 0 | 0 |
| Cipermetrina | 9,2x10 ⁷ | 8,3x10 ⁷ | 8,1x10 ⁷ | 8,1x10 ⁷ | 4,7x10 ⁷ | 4,5x10 ⁷ |
| (%) respecto del control | 92,0 | 83,0 | 81,0 | 81,0 | 47,0 | 45 |
| Lambda cialotrina | 6,9x10 ⁷ | 6,9x10 ⁷ | 6,9x10 ⁷ | 6,9x10 ⁷ | 7,2x10 ⁷ | 5,7x10 ⁷ |
| (%) respecto del control | 94,52 | 94,52 | 94,52 | 94,52 | 98,63 | 78,08 |
| Abamectina | 6,9x10 ⁷ | 6,9x10 ⁷ | 6,9x10 ⁷ | 6,2x10 ⁷ | 6,2x10 ⁷ | 7,0x10 ⁷ |
| (%) respecto al control | 88,46 | 88,46 | 88,46 | 79,48 | 79,48 | 89,74 |

Para el caso de los insecticidas, cipermetrina, la esporulación estuvo entre 47-45% de inhibición en relación con el testigo a las concentraciones de 1000 y 2000 mg L⁻¹ respectivamente, inferior a los demás insecticidas, lo cual debe ser considerado cuando se realicen tratamientos con este insecticida en cultivos o agroecosistemas donde se realizan aplicaciones foliares con *Trichoderma*.

La compatibilidad de los fungicidas con *T. harzianum* cepa A-34 a las dosis de campo es mostrada en la tabla 8. En este caso el fungicida zineb, que fue el que produjo mayor inhibición, obtuvo una T = 6,9 y se clasificó como muy tóxico contra la cepa A-34, (2).

Lo anterior concuerda en que este fungicida fue el de mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del hongo, así como provocó la menor esporulación. Se clasificó como moderadamente tóxico a los fungicidas folpet y mancozeb con valores de T= 58,5 y 56,8 respectivamente, lo cual resulta evidente dado los niveles de inhibición del crecimiento y reducción de la esporulación observados.

En el caso de los insecticidas: cipermetrina, lambda cialotrina y abamectina; se clasifican como productos compatibles con la cepa A-34 por los valores T calculados entre 72,1 y 81,3.

La germinación de los conidios de *T. harzianum* a diferentes concentraciones de los formulados se muestra en la tabla 9.

Tabla 8. Clasificación de la compatibilidad de plaguicidas con *Trichoderma harzianum* cepa A-34 a las concentraciones de campo.

Table 8. Classification of pesticide compatibility with *Trichoderma harzianum* strain A-34 at field concentrations.

| Fungicidas | Compatibilidad (2) | |
|---------------------|--------------------|----------------------|
| | Valor T | Clasificación |
| Mancozeb | 56,8 | Moderadamente tóxico |
| Folpet | 58,5 | Moderadamente tóxico |
| Zineb | 6,90 | Muy tóxico |
| Insecticidas | | |
| Cipermetrina | 81,34 | Compatible |
| Lambda cialotrina | 81,72 | Compatible |
| Abamectina | 72,18 | Compatible |

Tabla 9. Porcentaje de germinación de *Trichoderma harzianum* cepa A-34 a diferentes concentraciones de los plaguicidas.

Table 9. Germination percentage of *Trichoderma harzianum* strain A-34 at different pesticide's concentrations.

| Concentración | Folpet | Mancozeb | Zineb | Abamectina | Lambda cialotrina | Cipermetrina |
|---------------------------------|-------------|----------|-------|------------|-------------------|--------------|
| | -----%----- | | | | | |
| Testigo (0 mg L ⁻¹) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 10 mg L ⁻¹ | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 100 mg L ⁻¹ | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 200 mg L ⁻¹ | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 500 mg L ⁻¹ | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 1000 mg L ⁻¹ | 0 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| 2000 mg L ⁻¹ | 0 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |

Los insecticidas, cipermetrina, lambda cialotrina y abamectina, no afectaron la germinación de los conidios del biocontrol, mientras que los fungicidas folpet y mancozeb no permiten la germinación de los conidios a partir de concentraciones bajas del producto (10 y 100 mg L⁻¹) respectivamente. En contraste, zineb (solo afectó la germinación del hongo a concentraciones por debajo de la dosis de campo (1000 mg L⁻¹).

DISCUSIÓN

Aunque el uso de agentes de biocontrol podría reducir la aplicación de productos químicos en una medida limitada, es menos confiable y menos eficiente (13). El manejo integrado de plagas (MIP) tiene un enfoque que implica el uso de medidas biológicas, físicas y químicas para el control de poblaciones de agentes patógenos, de una manera ecológica y rentable (11). El uso combinado de antagonistas como control biológico, junto con productos químicos, como los plaguicidas, ha llamado mucho la atención como forma de obtener efectos sinérgicos o aditivos en el control de patógenos del suelo (12). Por tanto, los ensayos previos -encaminados a conocer la efectividad de una cepa determinada de un biocontrol como *T. harzianum* cepa A-34- junto a algunos fungicidas o insecticidas, usados frecuentemente en hortalizas y otros cultivos, permite no solo garantizar un control eficiente de las plagas en campo, sino un ahorro considerable de recursos en una agricultura sustentable (19, 21).

Para el insecticida abamectina, se comprobó que la clasificación de toxicidad obtenida por la inhibición del micelio del hongo antagonista (22) no concuerda con la clasificación de compatibilidad alcanzada según el crecimiento del micelo

en relación con el testigo, combinada con la esporulación en relación con el testigo (2), lo cual ha sido señalado con anterioridad para otros insecticidas y otros hongos biocontroladores (3, 4).

Los resultados en relación a la DL-50, concuerdan con los de otros investigadores, (3) quienes obtuvieron valores por debajo de la concentración de campo (2000 mg L⁻¹) para los fungicidas ditiocarbamatos sobre *Beauveria bassiana*, excepto para zineb, así como con los obtenidos por Castellanos *et al.*, 2011, en estudios de compatibilidad de fungicidas para el caso de *Lecanicillium lecanii*, excepto con mancozeb, que presentó DL-50 superiores a la concentración de campo.

El porcentaje de germinación de *T. harzianum*, aunque evaluados con métodos diferentes, se asemejan a los obtenidos por Muiño *et al.*, 2001, quienes informaron la compatibilidad de *Trichoderma* spp (cepas A34, A53 y A83 indistintamente) con varios plaguicidas empleados en el cultivo del tabaco.

Abamectina fue clasificado como ligeramente tóxico, lo que refuerza el criterio de que algunos productos fungicidas no afectan a *Trichoderma* en condiciones *in vitro*, como han señalado otros autores (14), quienes ubican a Lambda cialotrina entre ligeramente tóxico a inofensivo sobre este antagonista, el cual resultó inofensivo y compatible con *T. harzianum* en este ensayo.

Los insecticidas probados resultaron no tóxicos o ligeramente tóxicos al antagonista mientras que Sarkar *et al.*, 2010, señalan a otros insecticidas, quinalfos y dicofol como tóxicos a *Trichoderma* a la concentración más baja estudiada en la investigación (10 mg L⁻¹).

Este resultado podría servir de apoyo para diseñar estrategias en los programas de manejo integrado, donde suelen aplicarse combinaciones de este biocontrol junto a tales agroquímicos.

CONCLUSIONES

Los tres fungicidas folpet (ftalimida), mancozeb (ditiocarbamato) y zineb (ditiocarbamato) tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento del micelio del hongo *T. harzianum* al igual que abamectina y son clasificados como ligeramente tóxicos. Sin embargo, al considerar el valor T se clasifica a zineb, como muy tóxico, y a mancozeb y folpet como moderadamente tóxicos, mientras que los insecticidas resultaron compatibles. Los fungicidas afectan la germinación de los conidios del antagonista pero los insecticidas no.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarado, S. L.; Ulacio, D. O.; Sanabria, M. Ch.; Jiménez M. T. 2011. Compatibilidad *in vitro* de extractos vegetales y *Trichoderma harzianum* y su efecto en el crecimiento de *Sclerotium rolfii* sacc. y *Sclerotium cepivorum* BERK. Bol. Centro Invest. Biol. 45(3): 217-236.
2. Alves, S. B.; Moino, Jr. A.; Almeida, J. E. M. 1998. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: Controle microbiano de insetos, S.B. Alves. Fealq, São Paulo. 217-238 p.
3. Castellanos, L.; Muiño, B. L.; Lorenzo, M. E.; Rodríguez, A.; Gómez, M. 2011. Efecto sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. de siete fungicidas químicos que se emplean en la agricultura urbana. Fitosanidad. 15(1):31-38.
4. Castellanos, L.; Lorenzo, M. E.; Muiño, B. L.; Hernández, R.; Gillen D., López, V. 2012. Effect of six fungicides on *Lecanicillium (Verticillium) lecanii* (Zimm.) Zare & Gams. International Journal Food, Agricultural and Environment (JFAE). 10 (2): 1142-1145.
5. CENATOX. 2002: Lista Oficial de Plaguicidas Autorizados. Republica de Cuba. Registro Central de Plaguicidas. Centro nacional de Toxicología. La Habana, Cuba. 383p.
6. Consuegra, E. 2010. Efecto del biopreparado *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Pseudoperonopora cubensis* (Berk Curt) Rostov en pepino bajo tecnología de cultivo protegido. Tesis para obtener el título de Master en Agricultura Sostenible. Universidad de Cienfuegos. Cuba. 85p.
7. Elósegui, O. C.; Fernández, O. L.; Ponce, E. G.; Borges, G. M., Rovesti, L.; Jiménez, J. R. 2009. Colecta de esporas de *Trichoderma harzianum* Rifai cepa A 34 por lecho fluidizado y ciclón dual y por tamizaje vibratorio. Fitosanidad. 13(4): 265-269.
8. Franco, B. M.; Aída Lorenza, Orrego. 2013. Compatibilidad *in vitro* de aislados nativos de *Trichoderma* spp. con fungicidas para el tratamiento de semillas. Investig. Agrar. 15(1):15-22.
9. González, M.; Castellanos, L.; Ramos, M.; Pérez, G. 2008a. Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. contra patógeno en semillas de frijol, lechuga, girasol y arroz. Centro Agrícola. 35(1): 11-15.
10. González, M.; Castellanos, L.; Ramos, M.; Pérez, G. 2008b. Utilización del biopreparado *Trichoderma harzianum* cepa A-34 en condiciones de campo en el cultivo del frijol. Centro Agrícola. 35(2):47-50.
11. Kredics, L.; Antal, Z.; Manczinger, L.; Szekeres, A.; Kevei, F.; Nagy, E. 2003. Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. Food Technol Biotechnol. 41: 37-42.
12. Locke, J. C.; Marois, J. J.; Papavizas, G. C. 1985. Biological control of *Fusarium* wilts of greenhouse-grown *Chrysanthemums*. Plant Dis. 69: 167- 169.
13. Monte, E. 2001. Understarting *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. Int. Microbiol. 4: 1-4.
14. Muiño, B. L.; Saenz, M.; Stefanova, M.; Porras, A.; Díaz, I. 2001. Compatibilidad de algunos plaguicidas y fertilizantes en el cultivo del tabaco. Fitosanidad. 5(2): 3-10.

15. Perniola, O. S.; Staltari, S.; Chorzempa, S. E.; Astiz Gassó, M. M.; Molina, M. del C. 2014. Control biológico de *Fusarium graminearum*: utilización de *Trichoderma* spp. y biofumigación con parte aérea de *Brassica juncea*. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 46(2): 45-56.
16. Reyes, Y.; Infante, D.; García-Borrego, J.; Pozo, E.; del Crua, A.; Martínez, B. 2012. Compatibilidad de *Trichoderma asperellum* Samuels con herbicidas de mayor uso en el cultivo del arroz (en línea). Revista de Protección Vegetal. 27(1): 45-53.
17. Rodríguez, F.; Sandoval, I. 1998. Efectividad de diferentes productos químicos y de *Trichoderma harzianum* (Rifai) contra enfermedades fúngicas del tomate de hidropónico. Fitosanidad. 2(1-2): 51-56.
18. Rodríguez, F.; Stefanova, M.; Gómez, U. 1998. Efecto del biopreparado de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Pseudoperonospora cubensis* (Berk Curt) Rostow y *Erisiphe cichoracearum* D.C. en pepino (*Cucumis sativus* L.). Fitosanidad. 2(1-2): 41-43.
19. Sarkar, S.; Narayanan, P.; Premkumar, R.; Balamurugan, A.; Premkumar, R. 2010. The *in vitro* effect of certain fungicides, insecticides and biopesticides on mycelial in the control fungus *Trichoderma harzianum*. Turk J. Biol. 34: 399- 403. TUBITAK. Doi:10.3906/biy-0812-4.
20. Stefanova, M.; Sandoval, I. 1998. Efectividad de biopreparados de *Trichoderma* spp. en el control de hongos fitopatógenos del suelo. Boletín Técnico No 2. CID-INISAV. 20p.
21. Sundar, A. R.; Das, N. D.; Krishnaveni D. 1995. *In-vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against two fungal pathogens of Castor. Indian J. Plant Protec. 23: 152-155.
22. Viñuela, E. J.; Jacas, A.; Marco, V.; Adrón, A.; Badia F. 1993. Los efectos de los plaguicidas sobre los organismos beneficiosos en la agricultura y el grupo de trabajo de la OILB. "Plaguicidas y organismos beneficiosos I." Insecticidas y Acaricidas. *Phytoma*. España. 45: 18-25.

AGRADECIMIENTOS

A los especialistas del Laboratorio de Sanidad Vegetal (LPSV) de Cienfuegos, pertenecientes al Ministerio de Agricultura, Cuba, por el apoyo brindado en el suministro y manejo de la cepa A-34 de *T. harzianum*.