

Efecto de fungicidas sobre la antracnosis (*Colletotrichum fragariae* Brooks) en plantines de frutilla [*Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier]

Effect of fungicides on anthracnose (*Colletotrichum fragariae* Brooks) on strawberry plants [*Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier]

Marcial Adorno Chávez^{1*} y Laura Concepción Soilán Duarte¹

¹ Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Agrarias, Área Protección Vegetal. San Lorenzo, Paraguay.

***Autor para correspondencia:** RESUMEN
iverydsjunior@gmail.com

Conflicto de interés:
Los autores declaran no tener conflicto de interés

Licencia:
Creative Commons CC-BY

Historial:
Recibido: 14/07/17;
Aceptado: 14/03/18

La alta rentabilidad y adaptabilidad que presenta la frutilla en Paraguay se ven afectados negativamente por el aumento progresivo de la incidencia de la antracnosis en la planta. Con el fin de seleccionar un fungicida que controle eficazmente la enfermedad, se evaluó el efecto de los productos y para ello, se llevaron a cabo dos experimentos, en laboratorio e invernadero de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción. En el experimento *in vitro*, se determinó el porcentaje de inhibición micelial, se establecieron 22 tratamientos y ocho repeticiones que consistieron en diferentes fungicidas y el testigo; la unidad experimental estaba constituida por una placa de Petri. En el experimento *in vivo* se determinó la incidencia, severidad, intensidad de daño, contenido de clorofila y NDVI; los 13 tratamientos y cinco repeticiones estuvieron conformados por los diferentes fungicidas y un testigo; la unidad experimental consistió en tres plantas de frutilla. Para ambos experimentos se utilizó el diseño completamente al azar. Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza y al Test de Tukey al 5%. Los resultados *in vitro* indicaron que los fungicidas triazoles, estrobilurinas, en mezclas; y el mancozeb inhibieron el 100% de *Colletotrichum fragariae*. En condiciones *in vivo*, el efecto de los productos Tebuconazole+Trifloxystrobin, Trifloxystrobin+Cyproconazole, Mancozeb y Azoxystrobin+Propiconazole+Difenoconazole sobre la incidencia fue moderada y redujeron en un 51-63% la severidad y en un 60-77% la intensidad de daño de la antracnosis. Las plantas que fueron tratadas con Tebuconazole+Trifloxystrobin presentaron mayor contenido de clorofila.

Palabras clave: *Colletotrichum fragariae*, *Fragaria* × *ananassa*, antracnosis, control químico, clorofila.

ABSTRACT

High profitability and adaptability that presents strawberry production in Paraguay are affected negatively by the continuous increase of incidence of anthracnose. In order to select a fungicide that effectively controls the disease, it was assessed the effect of the products; for that, two experiments were conducted, in laboratory and greenhouse in the College of Agricultural Sciences of the National University of Asuncion. On *in vitro* experiment, it was determined the percentage of mycelium inhibition, there was established 22 treatments and eight replications, which consisted of different fungicides and a control; the experimental unit was composed by one Petri plate. On *in vivo* experiment, it was determined the incidence, severity, intensity of damage, chlorophyll content and NDVI; 13 treatments and five replications were composed by the different fungicides and the control; the experimental unit consisted of three strawberry's plants. The completely randomized design was used for both experiments. The data obtained was submitted to variance analysis and Test of Tukey 5%. *In vitro* results indicated *Colletotrichum fragariae* was inhibited completely by the triazoles, strobilurins, in mixtures; and mancozeb. During *in vivo* trials, the products Mancozeb, Tebuconazole+Trifloxystrobin, Trifloxystrobin+Cyproconazole and Azoxystrobin+Propiconazole+Difenoconazole presented moderate incidence and reduced 51-63% of severity and 60-77% of intensity of damage of anthracnose. The strawberry plants treated with Tebuconazole+Trifloxystrobin resulted in a major chlorophyll content.

Key words: *Colletotrichum fragariae*, *Fragaria* × *ananassa*, anthracnose, chemical control, chlorophyll.

INTRODUCCIÓN

La producción de frutilla (*Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier) en Paraguay representa un rubro de trascendental importancia económica para pequeños productores. El alto valor que posee la frutilla en el mercado, la alta rentabilidad y el período de cuatro meses de cosecha, representan un potencial de ganancias significativas que pueden ser obtenidas en pequeñas escalas; así también, el sector industrial se ve favorecido con los variados productos de los que se pueden obtener un valor agregado (ERC 2016). Actualmente, el Paraguay cuenta con una superficie plantada de 350 ha, una producción de 3.329 toneladas y un rendimiento promedio de 9,5 t ha⁻¹; estos valores han sufrido cambios crecientes entre 5-26% a lo largo del último decenio (MAG 2016).

Sin embargo, el manejo del cultivo es intensivo y existen factores edafoclimáticos, problemas fitosanitarios que interfieren en la producción (Urduy et al. 2013). Uno de los factores bióticos que afecta a la frutilla es la enfermedad denominada antracnosis causada por un complejo de tres especies de *Colletotrichum*. *C. fragariae* y *C. gloeosporioides* están asociados principalmente a la pudrición de la corona y frutos maduros en frutilla, mientras que *C. acutatum* tiende a infectar las flores y frutos inmaduros con mayor frecuencia (Silveira Baggio 2016). Las tres especies pueden ocasionar daños en estolones, pecíolos e infectar las hojas (France 2013). Las plantas infectadas presentan lesiones y marchitamiento progresivo, los síntomas en los estolones y pecíolos son marrones, alargados, deprimidos de 3-25 mm con una línea bien definida que separa el tejido enfermo del sano; en las hojas ocurre manchas necróticas oscuras y circulares de 0,5-2 mm de diámetro; en los frutos las lesiones son redondeadas y ligeramente deprimidas, color castaño a marrón oscuro y de consistencia firme, las lesiones pueden coalescer y tomar todo el fruto (Smith 2008).

La estrategia de control más práctica y eficaz utilizada en la etapa de producción de plantines es el control químico (Tassawar Abbas et al. 2016). Además, existen reportes en donde incrementos del contenido de clorofila, densidad de follaje, número de folíolos y otros componentes agronómicos han sido atribuidos a la utilización de fungicidas como triazoles, bencimidazoles, carbamatos y estrobilurinas (Silva Pesqueira et al. 2016). No

obstante, en la producción de frutilla, se observa que la antracnosis aumenta progresivamente, reduciendo el número de plantines e inclusive ocasionando la muerte de plantas madres. En el mercado nacional, existen varios fungicidas para el control de antracnosis, pero los mismos no son adecuados para el cultivo de frutilla debido que no existen evidencias científicas que demuestren la efectividad de los productos.

Teniendo en cuenta estas problemáticas, es fundamental la selección de fungicidas específicos que se adecuen a las condiciones de manejo del cultivo y logren controlar efectivamente a la enfermedad para evitar aplicaciones innecesarias en el cultivo, que repercutan en el costo de producción, selección de biotipos resistentes y en la inocuidad de los productos cosechados.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de fungicidas sobre la antracnosis en plantines de frutilla, para lo cual se determinaron el porcentaje de inhibición micelial *in vitro*; *in vivo* se determinaron la incidencia, severidad, intensidad de daño, contenido de clorofila e índice de vegetación por diferencia normalizada en plantines de frutilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos fueron realizados en el laboratorio e invernadero de la División de Fitopatología del Área Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA), ubicada en la ciudad de San Lorenzo, Departamento Central. Para el experimento *in vivo* se utilizaron plantines con 30 días de edad de la variedad Dover. La cepa de *C. fragariae* fue proveído por el laboratorio de fitopatología del Centro de Investigación Hernando Bertoni (CIHB) dependiente del Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria (IPTA).

Sensibilidad *in vitro* de *C. fragariae* a fungicidas

Se utilizó el diseño completamente al azar (DCA) con 21 tratamientos más un testigo, y ocho repeticiones (Tabla 1), totalizando 176 unidades experimentales, cada unidad experimental consistió en una placa de Petri.

El ensayo se realizó mediante la técnica de dilución adaptada por Quevedo (2012); en la cual se cargaron 110 mL de medio Papa+dextrosa+agar

(PDA) en erlenmeyers y se esterilizaron en autoclave. Posteriormente se añadió la dosis correspondiente de cada fungicida (Tabla 1) al medio y fue cargada en placas de Petri de 9 mm dentro de una campana de aislación; una vez solidificados, se colocó un disco de 5 mm de diámetro del patógeno en el centro de cada placa. Para el testigo, el medio utilizado fue PDA sin la adición de fungicidas. Las placas fueron incubadas a 27°C durante ocho días. El porcentaje de inhibición de los tratamientos se determinó mediante la fórmula propuesta por González et al. (2011): $(\text{Crecimiento testigo} - \text{Crecimiento tratamiento}) / \text{Crecimiento testigo} \times 100$.

Las evaluaciones se realizaron periódicamente cada 24 h después de la instalación hasta que el hongo cubrió la placa del tratamiento testigo. El crecimiento radial se midió con un escalímetro digital desde el punto medio de los discos del hongo hasta la zona en donde se observaron extremos de hifas del hongo. El efecto de los fungicidas fue clasificado de acuerdo con la escala adaptada de Kumar et al. (2007): control óptimo (95-100%); control bueno (>80%); control moderado (>50%) y control pobre (<50%)

Tabla 1. Descripción de los fungicidas y dosis utilizadas para el control de *C. fragariae*. FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2017.

	Tratamiento	Dosis
T1	Testigo: Agua estéril	-----
T2	Tebuconazole	600 mL ha ⁻¹
T3	Difenoconazole	800 mL ha ⁻¹
T4	Mancozeb	4.000 mL ha ⁻¹
T5	Picoxystrobin+Tebuconazole	500 mL ha ⁻¹
T6	Azoxystrobin+Cyproconazole	400 mL ha ⁻¹
T7	Tebuconazole+Trifloxystrobin	600 mL ha ⁻¹
T8	Trifloxystrobin+Cyproconazole	350 mL ha ⁻¹
T9	Azoxystrobin+Propiconazole+Difenoconazole	400 mL ha ⁻¹
T10	Picoxystrobin+Tebuconazole+Tiofanato metílico	1.100 mL ha ⁻¹
T11	Picoxystrobin+Cyproconazole+Tiofanato metílico	1.000 mL ha ⁻¹
T12	Azoxystrobin+Tebuconazole+Propiconazole+Tricyclazole	700 mL ha ⁻¹
T13	Propiconazole+Cyproconazole+Picoxystrobin+Clorotalonil	1.200 mL ha ⁻¹
T14	Azoxystrobin+Benzovindiflupyr	300 g ha ⁻¹
T15	Azoxystrobin+Cyproconazole+Carbendazin	300 mL ha ⁻¹
T16	Picoxystrobin+Prothioconazole	500 mL ha ⁻¹
T17	Azoxystrobin+Prothioconazole	320 mL ha ⁻¹
T18	Tiofanato metílico	700 g ha ⁻¹
T19	Azoxystrobin	400 mL ha ⁻¹
T20	Carbendazin	600 mL ha ⁻¹
T21	Clorotalonil	700 g ha ⁻¹
T22	Boscalid	150 g ha ⁻¹

Efecto de fungicidas sobre el control de la antracnosis en frutilla en condiciones *in vivo*

Se utilizó el diseño completamente al azar con 12 tratamientos más un testigo, con cinco repeticiones (Tabla 2), totalizando 65 unidades experimentales, cada unidad experimental consistió en tres plantines de frutilla.

Para la conformación de los tratamientos se seleccionaron doce productos que presentaron un control óptimo del patógeno en la prueba *in vitro*. Los plantines fueron mantenidos en macetas de polietileno negro de 400 mL en un invernadero, temperatura promedio diaria 28,9°C y la irrigación fue realizada una vez al día.

La inoculación fue realizada de acuerdo con la metodología adaptada por Tanaka et al. (2001); la cual consiste en la realización de heridas con una aguja hipodérmica en cuatro peciolo de hojas con limbo expandido y color verde claro, en la región del tercio inferior del mismo.

Los plantines fueron asperjados con una concentración de 1×10^7 conidios mL⁻¹ hasta el punto de goteo con un aspersor manual de pico cónico y fueron mantenidas en cámara húmeda durante 48 h. Tres días después de la inoculación (DDI) se realizó la aplicación de los fungicidas con las dosis correspondientes de cada tratamiento (Tabla 2). Se utilizaron aspersores de 2 L de capacidad con pico cónico. Se evaluó la incidencia de la antracnosis en

cada tratamiento a los 14, 21 y 28 DDI y fue calculado mediante la fórmula:

$$\% I = \frac{\text{Número de plantas con síntomas}}{\text{Número de plantas evaluadas}} \times 100$$

La incidencia de la enfermedad en los tratamientos fue clasificada mediante la escala de niveles de riesgo para una infección de antracnosis propuesta por Wilson et al. (1990) en la cual la incidencia está clasificada en baja: 0-15%; moderada: 16-50% y alta: 51-100%. La severidad de la antracnosis se evaluó a los 14, 21 y 28 DDI con la ayuda de la escala de Delp y Milholland (1981), la cual establece grados 1= sin lesiones; 2= manchas <3 mm; 3= 3-10 mm; 4= 10-20 mm; 5= 20 mm y 6= órgano necrótico. Para esto fueron analizados todos los órganos de la planta que presentaron síntomas típicos de la enfermedad.

Los datos de incidencia y severidad obtenidos fueron utilizados para el cálculo de la intensidad de daño (ID) a los 14, 21 y 28 DDI mediante la fórmula propuesta por French y Hebert (1980), en donde:

$$\% ID = \frac{1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4 + 5n_5 + 6n_6}{6 \times n} \times 100$$

También se determinó el contenido de clorofila de los tratamientos a los 14, 21 y 28 DDI con la ayuda de un medidor de clorofila de la marca atLEAF+, expresados en unidades SPAD (Soil Plant Analysis Department). El índice de vegetación por diferencia normalizada (NDVI) se cuantificó a los 28 DDI con la ayuda de un medidor de NDVI de la marca Trimble expresados en valores adimensionales de 0-0,99. Los datos obtenidos en los experimentos *in vitro*, contenido de clorofila y NDVI fueron sometidos a un análisis de varianza (ANAVA) y comparación de las medias con el test de Tukey 5%.

Tabla 2. Descripción de los fungicidas y dosis utilizadas para el control de la antracnosis. FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2017.

	Tratamiento	Dosis
T1	Testigo	-----
T2	Tebuconazole	600 mL ha ⁻¹
T3	Difenoconazole	800 mL ha ⁻¹
T4	Mancozeb	4.000 mL ha ⁻¹
T5	Picoxystrobin+Tebuconazole	500 mL ha ⁻¹
T6	Azoxystrobin+Cyproconazole	400 mL ha ⁻¹
T7	Tebuconazole+Trifloxystrobin	600 mL ha ⁻¹
T8	Trifloxystrobin+Cyproconazole	350 mL ha ⁻¹
T9	Azoxystrobin+Propiconazole+Difenoconazole	400 mL ha ⁻¹
T10	Picoxystrobin+Tebuconazole+Tiofanato metílico	1.100 mL ha ⁻¹
T11	Picoxystrobin+Cyproconazole+Tiofanato metílico	1.000 mL ha ⁻¹
T12	Azoxystrobin+Tebuconazole+Propiconazole+Tricyclazole	700 mL ha ⁻¹
T13	Propiconazole+Cyproconazole+Picoxystrobin+Clorotalonil	1.200 mL ha ⁻¹

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sensibilidad *in vitro* de *C. fragariae* a fungicidas

En la Tabla 3 se observa diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) en la inhibición del crecimiento micelial del patógeno por efecto de los fungicidas (Figura 1).

Los fungicidas Tebuconazole, Mancozeb, Difenoconazole, Azo+Tebu+Propi+Tricy, Pico+Tebu, Pico+Tebu+Tio, Pico+Cypro+Tio, Azo+Cypro, Azo+Propi+Difeno, Triflo+Cypro,

Tebu+Triflo y Propi+Cypro+Pico+Cloro obtuvieron un control óptimo al inhibir 100% el crecimiento micelial; mientras que Azo+Benzo, Azo+Cypro+Carbendazin, Pico+Prothioconazole, Azo+Prothioconazole presentaron un control bueno; y el Tiofanato metílico, Azoxystrobin, Carbendazin, Clorotalonil y Boscalid obtuvieron un control moderado a pobre.

El control pobre a moderado alcanzado por los fungicidas está fundamentado por la posible presencia de un aislado resistente al mecanismo de acción de cada fungicida, sea por presión de selección o mutación.

Tabla 3. Efecto de fungicidas sobre porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (ICM) de *C. fragariae*. FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2017.

Tratamiento	Descripción	ICM (%)	
T1	Testigo: Agua estéril	-----	
T2	Pico+Tebu+Tio	100*	a
T3	Pico+Cypro+Tio	100	a
T4	Mancozeb	100	a
T5	Difenoconazole	100	a
T6	Pico+Tebu	100	a
T7	Triflo+Cypro	100	a
T8	Tebu+Triflo	100	a
T9	Tebuconazole	100	a
T10	Propi+Cypro+Pico+Clor	100	a
T11	Azo+Cypro	100	a
T12	Azo+Tebu+Propi+Tricy	100	a
T13	Azo+Propi+Difeno	100	a
T14	Azo+Benzo	93,06	a b
T15	Azo+Cypro+Carbendazin	88,21	b c
T16	Pico+Prothioconazole	84,58	b c
T17	Azo+Prothioconazole	82,12	c d
T18	Tiofanato metílico	74,57	d e
T19	Azoxystrobin	69	e
T20	Carbendazin	59,91	f
T21	Clorotalonil	55,36	f
T22	Boscalid	26,62	g

* significativo al 0,05 nivel de probabilidad. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por el Test de Tukey al 5%; Difeno=difenoconazole; Cypro=cyproconazole; Triflo=trifloxystrobin; Benzo=benzovindiflupyr; Propi=propiconazole; Clor=clorotalonil; Tricy=tricyclazole; Azo=azoxystrobin; Pico=picoxystrobin; Tio=tiofanato metílico; Tebu=tebuconazole.

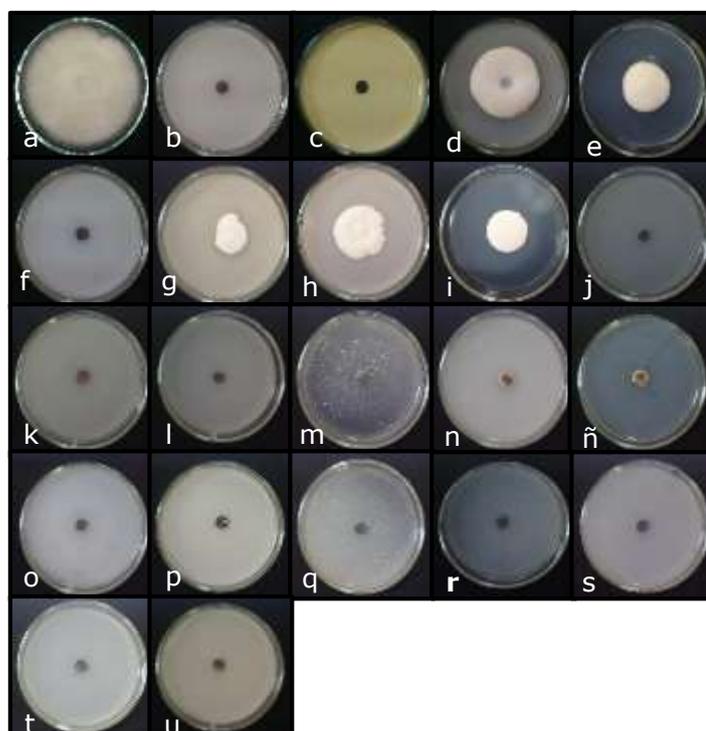


Figura 1. Crecimiento *in vitro* de *C. fragariae*. FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2017. a) Testigo; b) Tebuconazole; c) Mancozeb; d) Boscalid; e) Azoxystrobin; f) Difenoconazole; g) Tiofanato metílico; h) Clorotalonil; i) Carbendazin; j) Azo+Tebu+Propi+Tricy; k) Pico+Tebu+Tio; l) Pico+Cypro+Tio; m) Azo+Benzo; n) Azo+Cypro; ñ) Azo+Cypro+Carben; o) Pico+Tebu; p) Azo+Prothio; q) Pico+Prothio; r) Azo+Propi+Difeno; s) Triflo+Cypro; t) Tebu+Triflo; u) Propi+Cypro+Pico+Cloro.

Estas observaciones ya fueron reportadas por FRAC (2013) quien evidenció que los aislados de *C. graminicola*, *C. acutatum*, *C. lindemuthianum*, *C. dematium*, *C. gloeosporioides* y *C. capsici* en pruebas *in vitro* son insensibles a los mismos fungicidas utilizados en el experimento.

Por otra parte, Difenconazole, Tebuconazole y Mancozeb obtuvieron un control óptimo al suprimir totalmente el crecimiento micelial del hongo, esto podría deberse a una alta sensibilidad del patógeno a la inhibición de la dimetilasa en la biosíntesis de esteroides; y a la inactivación de los grupos sulfhídricos y la formación de complejos con las enzimas celulares (Agris 2011).

A pesar de la insensibilidad registrada para algunos fungicidas; se pudo constatar que una mayor inhibición fue alcanzada cuando éstos fueron mezclados con los triazoles.

Este resultado concuerda con lo expuesto por Mondino (2012), quien afirma que existe un fenómeno denominado resistencia cruzada negativa, la cual establece que la selección por resistencia a un ingrediente activo implica automáticamente susceptibilidad a otro de distinto sitio de acción.

La alta efectividad por parte de varios ingredientes activos del grupo químico de los triazoles ya fue demostrada por Shukla et al. (2010).

Efecto de fungicidas sobre el control de la antracnosis en frutilla en condiciones *in vivo*

En la Figura 2 se observa la incidencia de antracnosis a los 14, 21 y 28 DDI en plantines de frutilla. A los 14 DDI, los tratamientos correspondientes a los fungicidas Azo+Propi+Difeno, Triflo+Cypro, Tebu+Triflo, Mancozeb, Difenconazole, Azo+Cypro y Pico+Tebu+Tio reportaron valores bajos entre un 6,6-13,3% de incidencia. Sin embargo, para Azo+Tebu+Propi+Tricy, Tebuconazole, Pico+Tebu+Tio, Pico+Tebu y Propi+Cypro+Pico+Cloro éstos valores fueron superiores entre 19,9-33,3%, presentando una incidencia moderada.

A los 21 DDI, no se observaron incrementos en la incidencia para los fungicidas Azo+Tebu+Propi+Tricy y Propi+Cypro+Pico+Cloro. Por otra parte, en los tratamientos restantes se

registraron valores superiores entre 20-40% de incidencia del patógeno; correspondiendo a una incidencia moderada.

A los 28 DDI, todos los tratamientos obtuvieron una incidencia moderada entre un 26,6-46,6% de antracnosis; la mayor incidencia fue obtenida en el tratamiento Azo+Cypro con 53,3%. Resultados similares fueron obtenidos por Mackenzie et al. (2009) y Mouden et al. (2016) utilizando fungicidas de los mismos grupos químicos para el control de la antracnosis en frutilla.

Sin embargo, no concuerda con trabajos realizados por Díaz et al. (2016), Mouden et al. (2016) y Silva Pesqueira et al. (2016) quienes obtuvieron una alta incidencia de antracnosis en frutilla

En la Figura 3 se observa la severidad a los 14, 21 y 28 DDI de *C. fragariae* en plantas de frutilla tratadas con diferentes fungicidas. En todo el período de evaluación los tratamientos presentaron severidades menores con respecto al testigo. A los 14 DDI, los productos Mancozeb, Difenconazole, Azo+Propi+Difeno, Triflo+Cypro, Pico+Cypro+Tio y Pico+Tebu+Tio redujeron la severidad entre 62,9-68,5%, en comparación con el testigo. Por otra parte, los fungicidas Tebuconazole, Azo+Cypro, Propi+Cypro+Pico+Cloro, Tebu+Triflo y Pico+Tebu registraron valores entre 50-59,3%; siendo la más baja reducción obtenida por Azo+Tebu+Propi+Tricy con un 44,4%.

A los 21 DDI, los tratamientos correspondientes a Propi+Cypro+Pico+Cloro y Azo+Tebu+Propi+Tricy registraron un aumento de la severidad de 1-6%. En el caso de los fungicidas restantes, el avance del grado de enfermedad fluctuó entre 18,8-37,5%, siendo el fungicida Azo+Cypro el de menor capacidad para retrasar el desarrollo del patógeno.

A los 28 DDI, los fungicidas Tebuconazole, Tebu+Triflo y Azo+Propi+Difeno redujeron la severidad entre 59,2-62,9% en comparación con el testigo. No obstante, los demás tratamientos arrojaron valores entre 44,4-55,5%, siendo el producto Propi+Cypro+Pico+Cloro el que registró la menor reducción de 41,9%.

Resultados de reducción de severidad semejantes fueron encontrados por Pérez-León et al. (2015) y Silva Pesqueira et al. (2016); sin embargo, bajas reducciones de severidad de antracnosis en los cultivos de frutilla, mamón, mango y otros fueron

registrados por Mackenzie et al. (2009), Nam et al. (2011) y Pérez-León et al. (2015) utilizando grupos químicos tales como benzimidazol, estrobilurina y triazol en un período de evaluación de 15-20 días.

En la Figura 4 se observa la intensidad de daño a los 14, 21, 28 DDI de *C. fragariae* en plantas de frutilla. En todo el período del experimento el testigo presentó mayores índices de daño entre 45,5-73,3%.

A los 14 DDI se constató que el Mancozeb, Difenconazole, Azo+Propi+Difeno, Tebu+Triflo,

Triflo+Cypro, Pico+Cypro+Tio y Pico+Tebu+Tio registraron los menores valores entre 2,2-7,7% de daño por el hongo. En contraposición, los tratamientos restantes obtuvieron intensidades de daños entre 10-16,6%.

A los 21 DDI, en los fungicidas Azo+Tebu+Propi+Tricy y Propi+Cypro+Pico+Cloro el daño por el patógeno se incrementó entre un 1-11,2%. No obstante, en los demás productos los valores aumentaron entre un 42,8-81,8%, siendo el tratamiento correspondiente a Azo+Propi+Difeno el de mayor aumento.

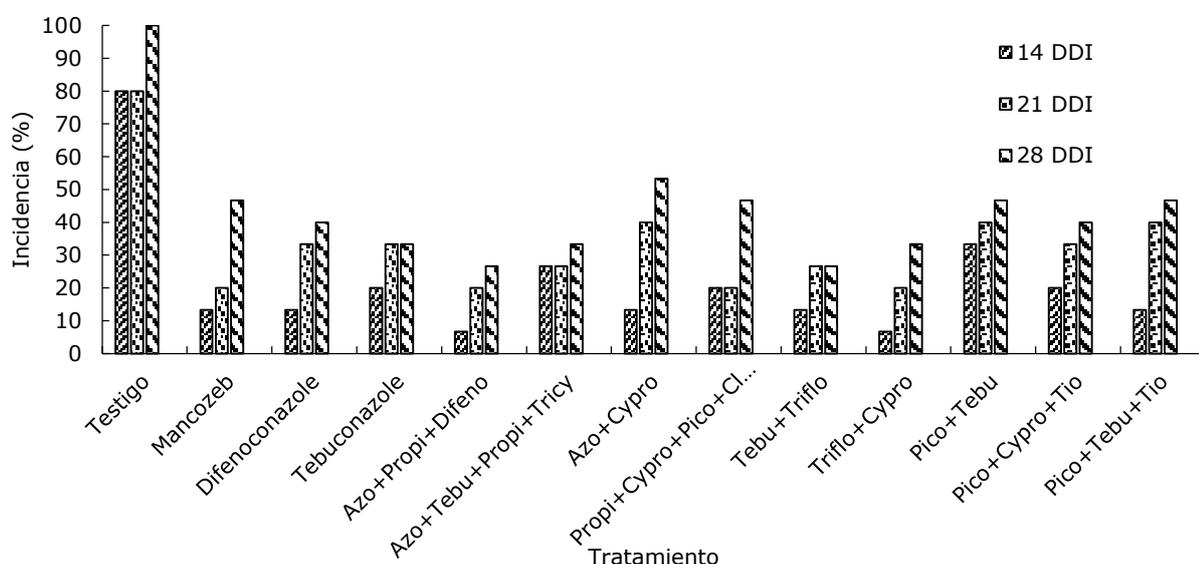


Figura 2. Porcentaje de incidencia de *C. fragariae* a diferentes fungicidas. FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2017.

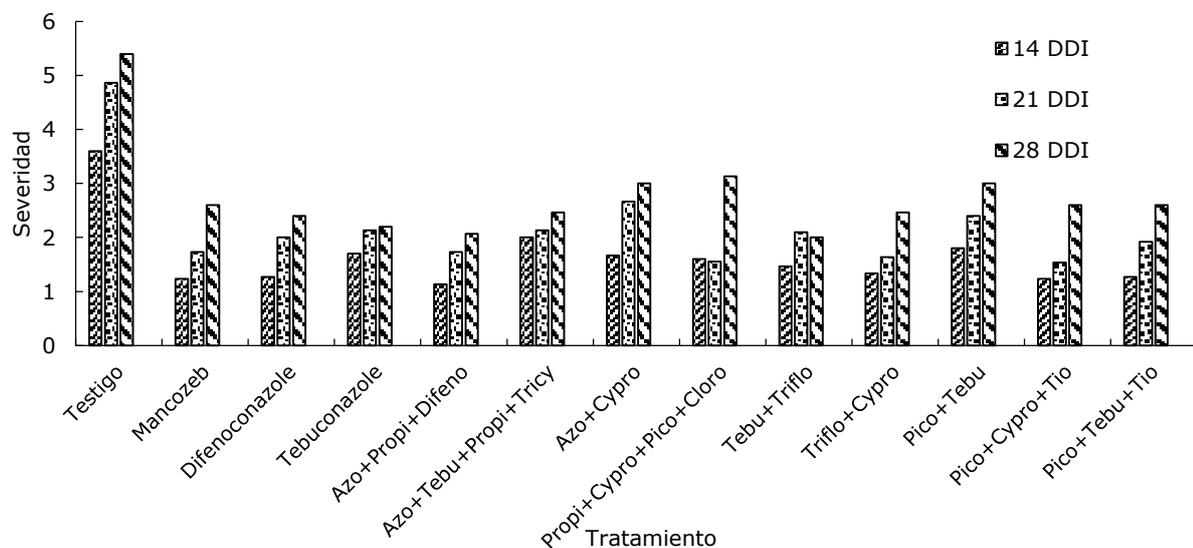


Figura 3. Severidad de *C. fragariae* a diferentes fungicidas. FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2017

A los 28 DDI, se observó una reducción entre 72,7-77,2% de la intensidad de daño en los fungicidas Tebuconazole, Tebu+Triflo y Azo+Propi+Difeno, en comparación con el testigo. Sin embargo, valores entre 54,5-68,1% de reducción fueron registrados para los tratamientos restantes. De esta manera, un 51,5% fue encontrado en plantas tratadas con Propi+Cypro+Pico+Cloro correspondiendo al mayor daño por parte de la enfermedad.

Los resultados de este experimento concuerdan con datos presentados por Basulto et al. (2011); Moustafa et al. (2015); Forcelini y Seijo (2016); Scribano y Garcete (2016) quienes registraron reducciones de severidad similares.

A través de los resultados obtenidos se puede constatar que la efectividad entre los fungicidas varió en un 25% a los 14 DDI, un 35% a los 21 DDI y un 33% a los 28 DDI. Esta variación entre los ingredientes activos fue discutida por Mackenzie et al. (2009) quienes demostraron que existe una variación en la movilidad de los fungicidas dentro

del sistema vascular de las plantas entre dos productos del mismo grupo químico. Shukla et al. (2010) relatan que la variabilidad es debido a la tasa de no absorción/descomposición de los fungicidas por parte de las plantas; y éste a su vez varía entre variedades.

De acuerdo con Díaz et al. (2016) la efectividad de los fungicidas depende de la aplicación oportuna, así también del ciclo biológico y de la interacción del patógeno con el hospedero; ya que, Klingelfuss y Yorinori (2001) mencionan que *Colletotrichum* sp. está presente en los órganos aéreos mucho antes de la aparición de los síntomas; así también indican que existen reportes de una alta variabilidad entre razas de una misma especie de *Colletotrichum*.

En la Tabla 4 se observa diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) en el contenido de la clorofila de las plantas por efecto de los distintos fungicidas utilizados en las 3 evaluaciones.

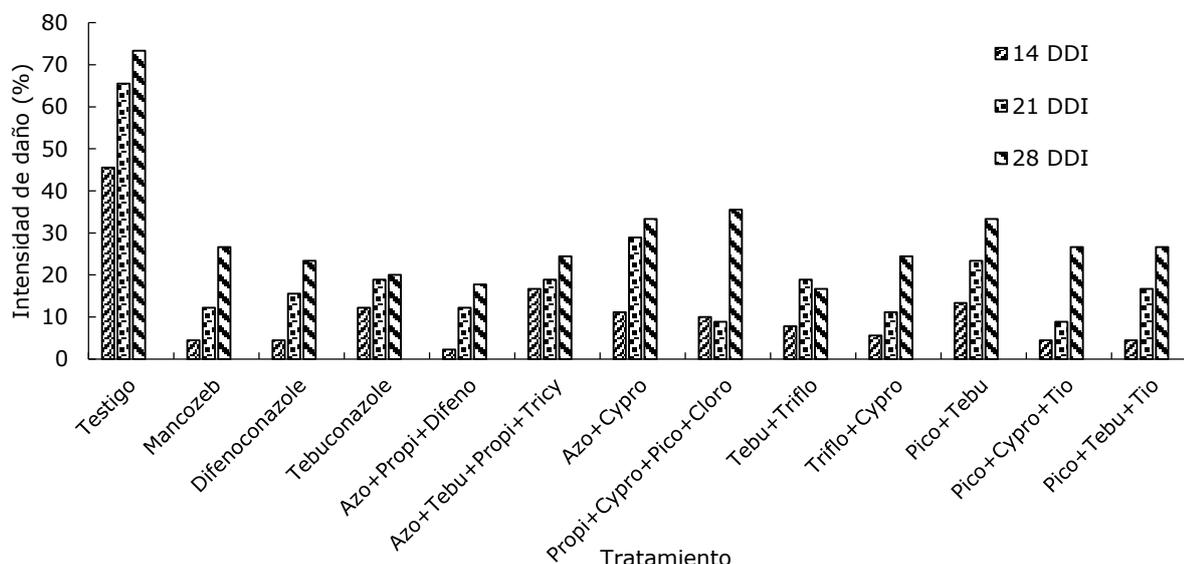


Figura 4. Intensidad de daño de *C. fragariae* en plantas de frutilla a diferentes fungicidas. FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2017.

Las plantas tratadas con el producto Tebuconazole+Trifloxystrobin presentaron el mayor contenido de clorofila de 2-3 unidades superiores con respecto al testigo y los demás tratamientos a los 14 y 21 DDI. En cambio, a los 28 DDI, el producto Tebuconazole se destacó con el mayor contenido de clorofila. El mayor contenido de clorofila registrado para plantas tratadas con

fungicidas ya fue evidenciado por varios autores (Jaleel et al. 2008; Daugovish et al. 2009); quienes a su vez afirmaron que otros componentes se ven afectados positivamente como altura de planta, número de foliolos, altura de inserción de vaina, densidad de follaje.

De acuerdo con Jaleel et al. (2008), los componentes químicos de los triazoles poseen la capacidad de activar varios metabolitos de la planta y algunos pigmentos. De esta manera, un mayor contenido de clorofila está atribuido a un incremento de los niveles de citoquinina en la planta que desencadenan en mayores estímulos de la biosíntesis de clorofila.

Así también Perlot et al. (2007) evidenciaron que el uso de azoxystrobin aumentó 4 veces el contenido de fósforo en las hojas de frutilla. Por consiguiente, de acuerdo con ensayos presentados por Zhu et al. (2012) y Novichonok et al. (2015) se concluyó que existe una alta correlación positiva ($R^2=0,85-0,97$)

de los valores SPAD con la concentración de clorofila en las hojas de las plantas evaluadas.

Además, España et al. (2006) y Daugovish et al. (2009) cotejaron que la concentración de clorofila está directamente relacionada con la cantidad de nitrógeno que afecta muchas características de la planta como el tamaño y forma de las células, acumulación de materia seca, número y tamaño de las hojas, altura y arquitectura de la planta que corresponden a componentes de la generación del rendimiento de las plantas. A su vez, Uebel (2015) establecieron que la aplicación de fungicidas tiene la capacidad de mejorar el crecimiento de la planta, mantener por mayor tiempo el área foliar verde y retrasar la senescencia de la clorofila.

Tabla 4. Efecto de los fungicidas sobre el contenido de clorofila de plantas de frutilla. FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2017.

Tratamiento	Contenido de clorofila (SPAD)					
	14 DDI*		21 DDI*		28 DDI*	
Tebuconazole+Trifloxystrobin	43,60	a	43,55	a	43,01	a b
Mancozeb	42,53	a b	42,39	a b c	41,99	a b c
Tebuconazole	42,15	a b c	42,97	a b	43,25	a
Propi+Cypro+Pico+Cloro	41,76	a b c	41,5	a b c	41,31	a b c
Trifloxystrobin+Cyproconazole	41,45	a b c	41,76	a b c	41,54	a b c
Pico+Cypro+Tio	41,44	a b c	41,67	a b c	40,53	a b c
Pico+Tebu+Tio	41,26	a b c	40,58	b c	39,12	c
Azo+Propi+Difeno	40,85	b c	40,04	c	41,52	a b c
Difenoconazole	40,73	b c	39,69	c	39,68	c
Azoxystrobin+Cyproconazole	40,73	b c	41,13	a b c	40,54	a b c
Picoxystrobin+Tebuconazole	39,96	b c	39,66	c	41	a b c
Testigo	39,81	b c	41,18	a b c	41,61	a b c
Azo+Tebu+Propi+Tricy	39,72	c	39,8	c	39,79	b c

* significativo al 0,05 nivel de probabilidad. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por el Test de Tukey al 5%.

En la Tabla 5 se visualiza diferencia estadística significativa ($P<0,05$) en el índice de vegetación por diferencia normalizada por efecto de los fungicidas utilizados. De esta manera los productos Pico+Tebu+Tio, Azo+Cypro, Triflo+Cypro, Tebuconazole y el testigo obtuvieron valores significativos entre 0,8-0,82 de NDVI. Por otra parte, el valor de NDVI fluctuó entre 0,72-0,79 en los restantes tratamientos. De acuerdo con Li et al. (2010) y Noling et al. (2010), quienes ejecutaron evaluaciones descriptivas con plantas de frutilla, documentaron que los valores estándares para el índice de vegetación por diferencia normalizada en

esta especie fluctúan entre 0,69-0,84. Éstos a su vez están correlacionados positivamente con características agronómicas como concentración de clorofila y nitrógeno en las hojas, rendimientos y densidad de follaje.

Según Uebel (2015) el NDVI proporciona informaciones sobre el desarrollo y estado sanitario de las plantas; cuanto más verde y sana la planta, mayor es el índice de NDVI. Por ende, la ausencia de diferencia significativa de este índice entre los tratamientos y el testigo está argumentado por la teoría expuesta por Leandro et al. (2002), Leandro

et al. (2003), Wharton y Diéguez-Uribeondo (2004) quienes registraron la sobrevivencia y esporulación secundaria de *C. acutatum* en hojas de frutilla sin síntomas aparentes y sin llegar a realizar la colonización de las células del hospedero.

De esta manera, la reflexión captada por el sensor NDVI corresponden a las transmisiones de las ondas rojas e infrarrojas de la hoja de una planta sana (Trimble 2016) debido a que no existe una infección por parte del patógeno al no llevarse a cabo los

procesos infectivos como formación de apresorio, penetración y colonización de las células (Leandro et al. 2002).

No obstante, la multiplicación de esta fase del patógeno puede generar una cantidad de esporas 2 a 3 veces superior a la inicial representando una importante fuente de inóculo para infecciones posteriores de flores, frutos y pecíolos; además de la posibilidad de establecerse infecciones tempranas en el ciclo del cultivo (Leandro et al. 2003).

Tabla 5. Efecto de fungicidas sobre el índice de vegetación por diferencia normalizada en plantas de frutilla. FCA-UNA. San Lorenzo, Paraguay. 2017.

Tratamiento	NDVI	
Picoxystrobin+Tebuconazole+Tiofanato metílico	0,82*	a
Testigo	0,81	a
Azoxystrobin+Cyproconazole	0,81	a
Tebuconazole	0,8	a
Trifloxystrobin+Cyproconazole	0,8	a
Propiconazole+Cyproconazole+Picoxystrobin+Clorotalonil	0,79	a b
Picoxystrobin+Cyproconazole+Tiofanato metílico	0,79	a b
Difenoconazole	0,79	a b
Picoxystrobin+Tebuconazole	0,78	a b
Azoxystrobin+Tebuconazole+Propiconazole+Tricyclazole	0,78	a b
Azoxystrobin+Propiconazole+Difenoconazole	0,78	a b
Tebuconazole+Trifloxystrobin	0,77	a b
Mancozeb	0,72	b

* significativo al 0,05 nivel de probabilidad. Medias seguidas por la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por el Test de Tukey al 5%.

CONCLUSIÓN

En condiciones *in vitro* los ingredientes activos individuales tebuconazole, difenoconazole y mancozeb; y en mezclas picoxystrobin, azoxystrobin, trifloxystrobin, cyproconazole, propiconazole, tricyclazole, prothioconazole, carbendazin, benzovindiflupyr presentan el mayor porcentaje entre 82-100% de inhibición micelial de *C. fragariae*.

Los productos Azoxystrobin+Propiconazole+Difenoconazole, Tebuconazole+Trifloxystrobin, Mancozeb y Trifloxystrobin+Cyproconazole presentan incidencias moderadas entre 16-50% de antracnosis en condiciones de invernadero.

Los fungicidas Azoxystrobin+Propiconazole+Difenoconazole, Tebuconazole+Trifloxystrobin,

Mancozeb y Trifloxystrobin+Cyproconazole reducen en un 51-63% la severidad y en un 60-77% la intensidad de daño de la antracnosis en condiciones de invernadero.

Plantas de frutilla tratadas con el producto Tebuconazole+Trifloxystrobin registran mayor contenido de clorofila en las hojas.

Las plantas tratadas con los fungicidas Picoxystrobin+Tebuconazole+Tiofanato metílico, Azoxystrobin+Cyproconazole, Trifloxystrobin+Cyproconazole y Tebuconazole presentan los mayores valores entre 0,8-0,82 de índice de vegetación por diferencia normalizada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, GN. 2011. Fitopatología. 2 ed. Balderas, ME. Mexico, Limusa. 821 p.
- Basulto, FS; Díaz Plaza, R; Gutiérrez Alonso, O; Fernández, JS; Larqué Saavedra, A. 2011. Control of two species of *Colletotrichum* causing anthracnose in Maradol papaya fruits. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2(5):631-643.
- Daugovish, O; Su, H; Gubler, WD. 2009. Preplant fungicide dips of strawberry transplants to control anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* in California. *HortTechnology* 19(2):317-323.
- Delp, BR; Milholland, RD. 1981. Susceptibility of strawberry cultivars and related species to *Colletotrichum fragariae*. *Plant Disease* 65:421-423.
- Díaz, MD; Pinheiro, VF; Corrêa Café-Filho, A. 2016. Impact of anthracnose on the yield of soybean subjected to chemical control in the north region of Brazil. *Summa Phytopathologica* 42(1):18-23.
- ERC (Economic Research Council, UK). 2016. ECR Research Papers (en línea). Inglaterra. Consultado 19 nov. 2016. Disponible en <http://www.ercouncil.org/research-papers/>
- España-Boquera, ML; Cárdenas-Navarro, R; López-Pérez, L; Castellanos-Morales, V; Lobit, P. 2006. Estimating the nitrogen concentration of strawberry plants from its spectral response. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 37:2447-2459.
- Forcelini, BB; Seijo, TE. 2016. Resistance in strawberry isolates of *Colletotrichum acutatum* from Florida to quinone-oxidase inhibitor fungicides. *Plant Disease* 100(10):2050-2056.
- FRAC (Fungicide Resistance Action Committee, Estados Unidos). 2013. List of plant pathogenic organisms resistant to disease control agents (en línea, sitio web). Consultado 28 ene. 2017. Disponible en: www.frac.info
- France, A. 2013. Manejo de Enfermedades en Frutilla. In INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Chile). 2013. Boletín INIA Nº 262. Manual de Frutilla. Undurraga Díaz, P; Vargas Schuldes, S (eds.). Chillán, Chile, Centro Regional de Investigación Quilamapu.
- French, ER; Hebert, TT. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. San José, Costa Rica. IICA. 277 p.
- González, LC; Muiño García, BL; Lorenzo Nicao, ME; Rodríguez Fernández, A; Gómez Albernal, M. 2011. Efecto *in vitro* de siete fungicidas químicos sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. *Fitosanidad* 15(1):31-38.
- Jaleel, CA; Ragupathi, G; Panneerselvan, R. 2008. Biochemical alterations in white yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) under triazole fungicides: Impacts on tuber quality. *Czech Journal of Food Sciences* 26(4):298-307.
- Kumar, AS; Reddy, NPE; Reddy, KH; Devi, MC. 2007. Evaluation of fungicidal resistance among *Colletotrichum gloeosporioides* isolates causing mango anthracnose in Agri Export zone of Andhra Pradesh, India. *Plant Pathology Bulletin* 16(3):157-160.
- Leandro, LFS; Gleason, ML; Wegulo, SN; Nutter, FW. 2002. Survival and sporulation of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves. *Acta Horticulturae* 567:627-629
- Leandro, LFS; Gleason, ML; Nutter, FW; Wegulo, SN; Dixon, PM. 2003 Influence of temperature and wetness duration on conidia and appressoria of *Colletotrichum acutatum* on symptomless strawberry leaves. *The American Phytopathological Society* 93(4):513-520.
- Li, H; Li, T; Gordon, R; Asiedu, S; Hu, K. 2010. Strawberry plant fruiting efficiency and its correlation with solar irradiance, temperature and reflectance water index variation. *Environmental and Experimental Botany* 68(2) : 165-174.

- Mackenzie, SJ; Mertely, JC; Peres, NA. 2009. Curative and protectant activity of fungicides for control of crown rot of strawberry caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Disease 93 (8) :815-820.
- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, Paraguay). 2016. Síntesis estadísticas: Producción agropecuaria. San Lorenzo, Paraguay, MAG. 51 p.
- Mondino, P. 2012. Resistencia a fungicidas: Conceptos y manejo (diapositiva). Uruguay. 1 Diapositiva 21 transparencias. Consultado 13 mar. 2017. Disponible en <https://studylib.es/doc/5743328/resistencia-a-fungicidas>.
- Mouden, N; Chliyah, M; Benkirane, R; Ouazzani, A; Douira, T; Douira, A. 2016. Chemical control of some strawberries fungal pathogens by foliar fungicides under *in vitro* and *in vivo* conditions. International Journal of Recent Scientific Research 7(2):9037-9051.
- Moustafa, MSH; Hala, AM; El-Dakar, M; Asmaa, M. 2015. Pestalotia leaf spot a new disease affect guava trees in Egypt. International Journal of Scientific & Engineering Research 6(10):1306-1312.
- Nam, MH; Kim, HS; Nam, YG; Peres, NA; Kim, HG. 2011. Fungicide spray program to reduce application in anthracnose of strawberry. Research Plant Disease 17(3):295-301.
- Noling, JW; Schumann, AW; Cody, M. 2010. Assessing field distribution, crop impact and sting nematode management in Florida strawberry. Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions Florida : 46-51.
- Novichonok, EV; Novichonok, AO; Kurbatova, JA; Markovskaya, EF. 2015. Use of the atLEAF+ chlorophyll meter for a nondestructive estimate of chlorophyll content. Photosynthetica 53(1):1-8.
- Pérez-León, G; Castillo-Matamoros, R; Chavarría-Pérez, L; Brenes-Angulo, A; Gómez-Alpizar, L. 2015. Combate químico de la antracnosis de *Sansevieria trifasciata* var. Hahnii en un sistema de hojas separadas. Agronomía Mesoamericana 26(2):305-313.
- Perlot, H; Amsalem, L; Elad, Y. 2007. Effect of chemical pesticides and biocontrol agents on growth and mineral composition of healthy strawberries. Biological control of fungal and bacterial plant pathogens 30(6):269-272.
- Quevedo Damian, I. 2012. Evaluación de fungicidas sistémicos y de contacto en el control de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*). Tesis M. Sc. Tabasco, México, Colegio de Postgraduados. 86 p.
- Scribano, FR; Garcete, V. 2016. Eficiencia de fungicidas de síntesis y orgánicos sobre la pudrición de corona del fruto de banano *Musa acuminata* Colla en la provincia de Formosa, Argentina. RIA 42(2):201-206.
- Shukla, RS; Abdul, K; Alam, M. 2010. Chemical control of blossom blight disease of sarpagandha caused by *Colletotrichum capsici*. African Journal of Biotechnology 38:6397-6400.
- Silva Pesqueira, A Da; Arruda Bacchi, LM; Gavassoni, WL. 2016. Associação de fungicidas no controle da antracnose da soja no Mato Grosso do Sul. Revista Ciencia Agronomica 47(1):203-212.
- Silveira Baggio, J. 2016. Fungicide sensitivity and spatial and temporal dynamics of *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum* spp. in conventional and organic strawberry fields. Tesis Ph.D. Tesis. Piracicaba, BR, Luiz de Queiroz College of Agriculture. 152 p.
- Smith, BJ. 2008. Epidemiology and pathology of strawberry anthracnose: A north american perspective. HortScience 43(1):69-73.
- Tanaka, MA de Souza; Passos, FA; Betti, JA; Matos Pires, RC de. 2001. Métodos de inoculação de

- Colletotrichum fragariae* em morangueiro. Scientia Agricola 58(4):725-729.
- Tassawar Abbas , H; Talib, S; Habib, A; Ahmed, S. 2016. Laboratory evaluation of fungicides and plant extracts against different strains of *Colletotrichum falcatum* the cause of red rot of sugarcane. Journal of Agricultural Sciences 53(1):181-186.
- Trimble. 2016. Farm Work Software (en línea). Consultado en 27 feb. 2017. Disponible en <http://www.farmworks.com/products/greenseekerhandheld>
- Uebel, JD. 2015. Avaliação de fungicidas no controle de doenças foliares, grãos ardidos e efeito no ndvi (índice de vegetação por diferença normalizada) em híbridos de milho. Tesis M. Sc. Tesis. Brasilia, Brasil, Universidade de Brasília.119 p.
- Urdaneta, L; Sanabria, M; Rodríguez, D; Pérez de Camacaro, M. 2013. Antracnosis causada por *Colletotrichum acutatum* Simmonds en frutos de fresa en los estados de Lara y Trujillo, Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía 30 (4):504-528.
- Wharton, PS; Diéguez-Urbeondo, J. 2004. The biology of *Colletotrichum acutatum*. Anales del Jardín Botánico de Madrid. 61(1):3-22
- Wilson, LL; Madden, LV; Ellis, MA. 1990. Influence of temperature and wetness duration on infection on immature and mature strawberry fruit by *Colletotrichum acutatum* (en línea). Phytopathology 80(1):111-116. Consultado 17 abr. 2017. Disponible en https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1990Articles/Phyto80n01_111.PDF
- Zhu, J; Tremblay, N; Liang, Y. 2012. Comparing SPAD and atLEAF values for chlorophyll assessment in crop species. Canadian Journal of Soil Science 92:645-648