UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJAN

“DETERMINACIÓN *IN VITRO* DE LA SENSIBILIDAD A QUITOSANO Y COBRE (FORMULADO COMERCIAL) DE AISLAMIENTOS DE *Phytophthora capsici* PROVENIENTES DE SUELOS DE PRODUCCIÓN HORTÍCOLA DE LUJÁN Y GENERAL RODRÍGUEZ, PROVINCIA DE BUENOS AIRES”

MODALIDAD: Investigación

Trabajo Final de Aplicación para optar por el título de Ingeniero Agrónomo

Carrera: Ingeniería Agronómica

CANAGLIC BRIAN SAUL

Consejera: Ing. Agr., María del Pilar Sobero y Rojo.

Tribunal evaluador: Ing. Agr., M. Sc. Miguel Ángel Sangiacomo

Ing. Agr. Marina Yabar

Ing. Agr. Pablo Ismael Rodriguez.

2021

Lujan, Buenos Aires, Argentina

AGRADECIMIENTOS

Dedicado a mi familia, a los amigos y compañeros de la carrera, docentes de la Universidad Nacional de Lujan, es especial a Pilar Sobero y Rojo y Marina Yabar por su tiempo y dedicación. A Johanna por ser mi compañera de vida, mi amor y apoyar en cada momento a la finalización de este ciclo de estudio, a Exequiel por acompañarme en todo momento y ser más que amigo un hermano y a David que también me acompañó y me aguantó durante mucho tiempo. A todos ellos dedico la concreción de

Agradecimiento especial a los técnicos de los laboratorios de Fitopatología y Protección vegetal en la preparación de los materiales para poder llevar a cabo este ensayo.

ÍNDICE

RESUMEN……...5

I. INTRODUCCIÓN……6

I.1 *DESCRIPCIÓN DE LA AGRICULTURA EN ARGENTINA*……....6

I.1.1 DESARROLLO DE HORTICULTURA SUSTENTABLE……....11

I.2. *DESCRIPCIÓN DEL GENERO PHYTOPHTHORA*……....13

I.2.1 TAXONOMIA, MORFOLOGIA Y FISIOLOGIA DE P. CAPSICI…….....13

I.2.2. BIOLOGIA Y EPIDEMIOLOGIA DE P. CAPSICI……....15

I.2.3. SINTOMAS Y ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR P. CAPSICI……..18

I.2.4. ESTRATEGIAS PARA EL CONTROL DE P. CAPSICI…….....21

I.3. *DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO COMERCIAL QUITOSANO MAS COBRE*……...22

I.3.1 DEFINICIÓN……..22

I.3.2 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL QUITOSANO……..23

I.3.3 FUENTES DE OBTENCIÓN…….....23

I.3.4 PROPIEDADES DEL QUITOSANO……..…24

I.3.5 USOS EN LA AGRICULTURA……....25

I.3.6 DESCRIPCIÓN DEL QUITOSANO MAS COBRE (FORMULADO COMERCIAL)……....25

I.3.7 MECANIMOS DE ACCIÓN DEL COBRE……28

OBJETIVOS……30

General……...30

Específicos……..…30

HIPÓTESIS……...……..30

MATERIALES Y MÉTODOS…….....30

RESULTADOS…….....35

DISCUSIÓN……53

CONCLUSIONES……..55

CONSIDERACIONES FINALES…….…....56

BIBLIOGRAFIA…….…..57

ANEXO……...…62

RESUMEN:

La utilización de sustancias biodegradables respetuosas con el medio ambiente e inocuas para la salud humana es uno de los retos de la agricultura en Argentina y en el mundo. La producción hortícola se ve afectada por un conjunto de factores que merman el volumen potencial y final, entre los que se pueden destacar las enfermedades de origen fúngico. Un patógeno de gran importancia es *Phytophthora* sp., ya que afecta numerosos cultivos hortícolas. El producto fitosanitario de origen biológico formulado como quitosano más cobre, se emplea principalmente como promotor del crecimiento de las plantas con propiedades que promueven la defensa contra infecciones de *Phytophthora* sp. y la sustentabilidad del sistema productivo, entre otras características. El objetivo del presente trabajo constituyó en determinar *in vitro* la sensibilidad a quitosano más cobre (formulado comercial) de aislamientos de *Phytophthora capsici* como una alternativa sustentable para el control de este patógeno. El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de los laboratorios de Fitopatología y de Protección Vegetal de la Universidad Nacional de Luján. Se emplearon aislamientos (cepas) del hongo provistas por el laboratorio de fitopatología, colectadas de suelos hortícolas. Se realizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de dos factores: “dosis” y “aislamientos”. El factor “dosis” estuvo constituido por cuatro diferentes dosis de formulado comercial: 0 ppm, 1000 ppm, 2000ppm y 4000 ppm y el factor “aislamiento” constituido por 10 niveles correspondiendo a 10 aislamientos del hongo. Por cada tratamiento se realizaron 3 repeticiones. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y test de comparación de medias mediante el programa “Infostat” y se pudo comprobar el efecto inhibitorio del quitosano más

cobre sobre el crecimiento del hongo y además con los resultados obtenidos se corroboró la diferente sensibilidad de los aislamientos (cepas) disponibles de *Phytophthora capsici* a las dosis utilizadas. Todos los tratamientos presentaron disminución del crecimiento del hongo con las diferentes dosis, registrándose para algunos aislamientos una inhibición completa. Además, se comprobó el efecto inhibitorio en el crecimiento del hongo con la dosis recomendada (como fertilizante) de 2000 ppm.

I. INTRODUCCIÓN:

La utilización de sustancias biodegradables respetuosas con el medio ambiente e inocuas para la salud es uno de los retos tanto de la agricultura como de la industria de la post-recolección de frutas y hortalizas en Argentina y en el mundo. De cara a un mundo en donde la población humana mantiene un constante crecimiento, el recurso suelo como fuente de nutrientes y soporte físico de la producción de vegetales comestibles, necesita ser preservado con actitudes y alternativas de manejo que posibiliten la sustentabilidad y productividad en el tiempo. Es así como el producto de origen biológico quitosano, en sus variantes comerciales, está siendo utilizado con gran éxito en los sistemas de producción agraria ecológica del mundo (Varga *et al*., 2010).

I.1. *DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD HORTICOLA EN ARGENTINA*

Argentina tiene una superficie continental de 2,8 millones de km^2 y cuenta con unos 34 millones de hectáreas con cultivos agrícolas. Los principales cultivos que ocupan esa superficie son: soja, trigo, maíz, girasol, sorgo y arroz. La producción

de hortalizas y legumbres ocupa solamente 1,5% de ese total, con unas 500.000 hectáreas. El volumen de producción es 8-10 millones de toneladas, y si bien es muy inferior a los cereales y oleaginosas (más de 90 millones de toneladas en la campaña 2009/2010), se destaca fundamentalmente por su elevado valor económico por unidad de peso y por su alta producción por unidad de superficie cultivada (Fernández Lozano, 2012).

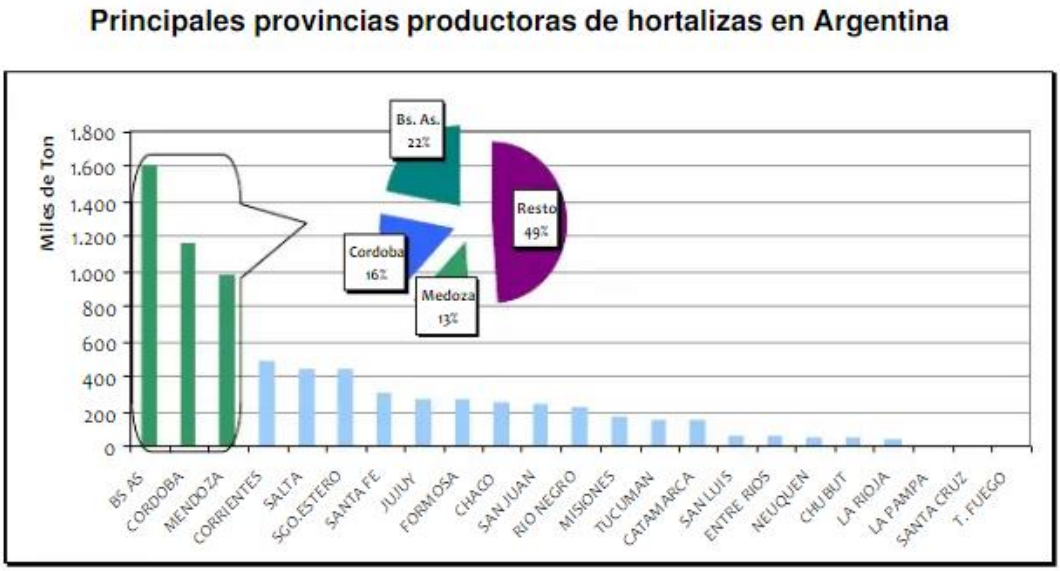

Figura N°1: Informe Mercado Central: "La producción de hortalizas en Argentina"
FUENTE: (Fernández Lozano, 2012)

La actividad hortícola se caracteriza por su alto grado de intensidad en cuanto a la utilización de los factores de producción tierra, trabajo, capital y tecnología. Si comparamos con el sector agropecuario en su totalidad, demanda 30 veces más mano de obra, 20 veces más uso de insumos y 15 veces más inversión en maquinaria y equipos por unidad de superficie. Por otra parte, debido a que esta actividad se desarrolla prácticamente en todas las provincias de Argentina, cobra una notable importancia desde el punto de vista geopolítico y estratégico, formando parte de las llamadas "economías regionales". Cabe destacar que esta

actividad económica tiene una importante trascendencia social ya que genera una elevada cantidad de puestos de trabajo relacionados con la producción, transporte y distribución, almacenamiento, comercialización e industrialización (Fernández Lozano, 2012).

Figura N°2: Informe Mercado Central: "La producción de hortalizas en Argentina"
FUENTE: (Fernández Lozano, 2012)

Como se mencionó anteriormente, la actividad hortícola en Argentina se realiza en casi todo su territorio debido a la diversidad de climas que posee, sin embargo, la producción que abastece a los principales centros urbanos de consumo se localiza en determinadas regiones con aptitudes agroecológicas (Fernández Lozano, 2012). La mayoría de las ciudades argentinas con más de 100.000 habitantes se caracteriza por contar con un "cinturón verde" de abastecimiento de hortalizas.

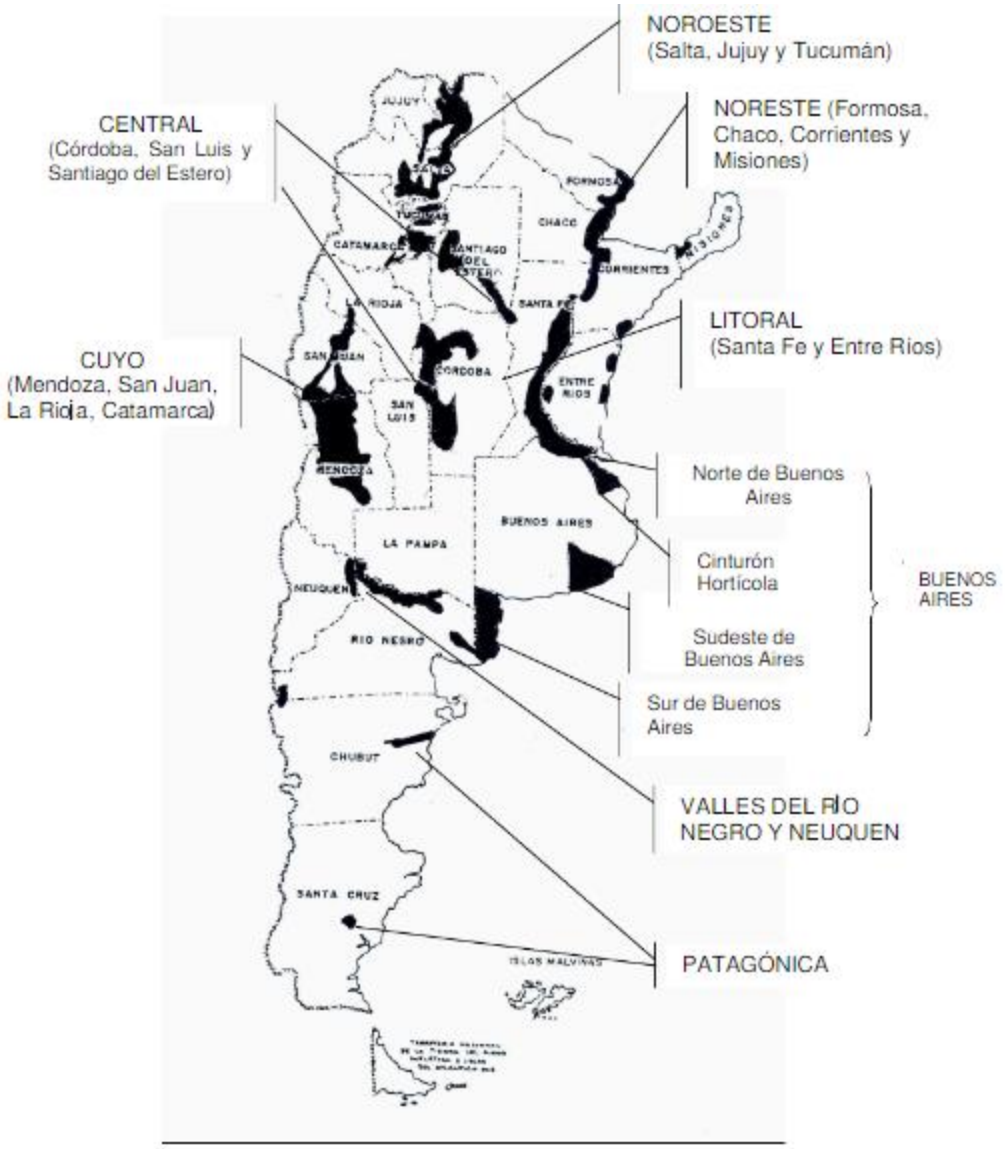

Figura N°3: Principales regiones hortícolas de Argentina
FUENTE: (Fernández Lozano, 2012)

Se define como "cinturón verde" al territorio ocupado por quintas o huertas familiares y comerciales que rodea a las ciudades y donde se producen hortalizas para abastecer a la población urbana. Los establecimientos hortícolas en estas zonas se caracterizan por el cultivo de una gran diversidad de especies hortícolas, la mayoría de los casos muy perecederos, como hortalizas de hoja, de inflorescencias y de fruto. En general, se trata de explotaciones pequeñas o

medianas (1 a 40 hectáreas). Su principal ventaja competitiva es la cercanía al mercado consumidor, lo cual permite producir muchas especies, aunque agroclimáticamente no sean las zonas óptimas para algunas de ellas. Por el tipo y variabilidad de especies cultivadas, en la planificación de los cultivos se tiene en cuenta un escalonamiento en la siembra y cosecha con la finalidad de realizar un abastecimiento continuo al mercado (Fernández Lozano, 2012).

El cinturón hortícola de Buenos Aires que rodea al conglomerado urbano integrado por C.A.B.A. y ciudades próximas, se extiende desde Escobar hasta la Plata. El clima es templado sin estación seca, con veranos calurosos e inviernos benignos. El período libre de heladas es de 220 días (desde el 20 de octubre hasta el 10 de mayo). Las precipitaciones rondan los 900 a 1000 mm anuales. Presenta suelos argiudoles típicos y argiudoles vérticos que poseen un horizonte “A” provisto de abundante materia orgánica y textura franco - limosa y un horizonte “B” textural que presenta textura franco - arcillosa y menor cantidad de materia orgánica que el horizonte precedente (Ferratto *et al.,* 2010).

Se destacan los cinturones hortícolas del área metropolitana de Buenos Aires, La Plata, Rosario, Córdoba, Mar del Plata, Mendoza y Tucumán. La problemática en la mayoría de los Cinturones Hortícolas de Argentina se puede sintetizar considerando los siguientes aspectos:

- Incremento del precio de la tierra por ampliación del área urbana hacia las zonas de producción.
- Prácticas culturales utilizadas en la producción de hortalizas que atentan contra la sustentabilidad del sistema y el ambiente

Por ende, la actividad hortícola periurbana requiere una especial atención y programación en el presente y de cara al futuro por estar sumida en una grave problemática que va desde la falta de inocuidad de los productos, debido a numerosas fuentes de contaminante, hasta la falta de sustentabilidad de los sistemas productivos (Galmarini, 2009).

Según datos de CASAFE y CIAFA[1], se vendieron en Argentina alrededor de 300 millones de litros de plaguicidas en el año 2013. Un 20% de ese volumen se aplica en hortalizas, frutales de pepita y carozo, vid, caña de azúcar, arroz, granos almacenados y algodón, entre otros (Villamil *et al.,* 2013).

Las repetidas aplicaciones de productos fitosanitarios tienen consecuencias ambientales, tales como la reducción de la calidad del agua y del suelo, por presencia y acumulación de residuos, sumado al deterioro en la calidad del aire por volatilización de sustancias activas (Viglizzo y Frank, 2010). Además, constituyen un factor de riesgo para la salud humana, ya sea por intoxicación aguda, mediante inhalación, ingesta o absorción dérmica, o por la exposición crónica, a través del consumo de alimentos contaminados (Villamil *et al*., 2013).

I.1.1 DESARROLLO DE LA HORTICULTURA SUSTENTABLE

La horticultura urbana y periurbana constituye una fuente cercana de alimentos, genera puestos de trabajo y preserva los espacios verdes frente a una urbanización cada vez mayor. En el “cinturón verde” de Buenos Aires, unos 2.500 establecimientos se dedican al cultivo de hortalizas y ocupan 10.000 hectáreas.

[1] CASAFE: Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes.
CIAFA: Cámara de la Industria Argentina de Fertilizantes y Agroquímicos.

Estas tierras, usadas para la producción a pequeña escala, enfrentan a la urbanización y el uso que se le otorga constituye uno de los mayores conflictos (Mitidieri y Corbino, 2012).

En la horticultura sustentable lo esencial es el suelo. Al crear y mantener un suelo vivo y saludable, el horticultor puede cultivar alimentos que proporcionan salud (Jeavons, 2007).

La búsqueda de materiales menos agresivos con el ambiente es una tarea continua en todas las áreas del quehacer humano debido a los altos niveles de contaminación presentes en todo el planeta. En la agricultura este trabajo es doblemente complicado porque, por un lado, se deben producir materiales que logren su efecto específico en la planta o en sus productos, mientras que, por el otro, se necesita que éstos se eliminen sin efectos perturbadores en el medio ambiente. Adicionalmente, en los sistemas agrícolas es necesario garantizar que los diversos agroquímicos utilizados como plaguicidas, estimuladores de crecimiento, fertilizantes, etc., no produzcan efectos perjudiciales como la inducción de resistencia en patógenos o su posible acumulación en los consumidores humanos. El uso de productos fitosanitarios de origen natural podría ser una solución satisfactoria a la problemática anterior (Velásquez, 2007).

En este aspecto es imprescindible ajustar los mecanismos de estrategias y tácticas de control de las plagas que puedan afectar a los cultivos, pero a su vez preserven la sustentabilidad de la producción.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), se define al producto fitosanitario como “la sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir la acción de, o destruir directamente, insectos, ácaros, moluscos, roedores, hongos,

malas hierbas, bacterias y otras formas de vida animal o vegetal perjudiciales para la salud pública y también para la agricultura". Inclúyase en esta definición las sustancias reguladoras del crecimiento vegetal o fitorreguladores (Pacheco *et al*., 2017).

El uso de productos fitosanitarios tiene su origen en el siglo XIX. Hoy en día son muy variadas las estructuras químicas a las que pertenecen los diferentes productos, y su utilización es muy alta debido a la gran cantidad de plagas que afectan la agricultura, por lo que los productores recurren a estos sin poner atención al daño que pueden ocasionar a sí mismos o al ambiente, por su mal uso o irresponsabilidad, y en algunos casos negligencia. Las consecuencias de la exposición a plaguicidas para la salud humana dependen de numerosos factores, incluido el tipo de plaguicida y su toxicidad, la cantidad o dosis de exposición, la duración, el momento y las circunstancias de exposición, entre otros (Pacheco *et al*., 2017).

Por lo mencionado, resulta necesario conocer qué estrategia utilizar y a partir de allí la elección de un correcto control contemplando cual/es son los productos recomendados para la enfermedad o plaga identificada, ya que cada producto ha sido elaborado, aprobado y registrado para ciertos usos y no para otros y en lo posible, elegir aquel que menor riesgo ofrezca en una determinada situación.

I.2 *DESCRIPCIÓN DE Phytophthora capsici*

Uno de los géneros de patógenos que afecta numerosos cultivos y poblaciones naturales de especies vegetales es *Phytophthora* sp*.* Es un género de pseudohongos fitopatógenos de gran importancia (Erwin y Ribeiro, 1996). Son

similares a los hongos verdaderos en cuanto a morfología, patrones de crecimiento y modos de nutrición, pero los análisis de comparación de secuencias indican que están filogenéticamente separados de los hongos (Baldauf y Roger, 2000).

I.2.1 TAXONOMIA, MORFOLOGIA Y FISIOLOGIA DE P. capsici

El Reino Straminipila agrupa a organismos que comparten un rasgo común; sus zoosporas son biflageladas heterocontas, con dos flagelos distintos. Este Reino está integrado por el phylum Oomycota. Los organismos del phylum Oomycota se diferencian de los hongos verdaderos por tener zoosporas biflageladas heterocontas y desarrollar un talo cenocítico diploide. Tienen reproducción sexual mediante contacto gametangial, produciéndose como resultado una cigota de paredes gruesas (oospora) (Dick, 2001). Presenta una sola clase: Peronosporomycetes (ex Oomycetes), integrada por dos linajes básicos de organismos con talo miceliar: subclases Saprolegniomycetidae y Peronosporomycetidae (Dick *et al.,* 1984). La subclase Peronosporomycetidae está compuesta por organismos más evolucionados, con hábitos terrestres, que se comportan, en su mayoría, como parásitos de vegetales (Alexopoulus, 1996). De acuerdo con Dick (2001), hay solo dos órdenes dentro de los Poronosporomycetidae: Peronosporales y Pythiales. Los Pythiales son un orden que incluye tanto parásitos obligados como saprótrofos. En los Pythiales, los zoosporangióforos no están bien diferenciados (Dick, 2001). En el orden Pythiales hay una gran familia: Pythiaceae, y otra muy pequeña, Pythiogetonaceae. Los géneros más comunes de la familia Pythiaceae son Phytium y Phytophthora y su nombre se debe a que el género Phytium fue descripto primero (Erwin y Ribeiro,

1996). Se destaca que Phytophthora es un competidor pobre del suelo, pero un parásito agresivo, principalmente de dicotiledóneas (Brasier y Hansen, 1992; Alexopoulus *et al*., 1996). La diferenciación de las zoosporas en Phytophthora se produce adentro del zoosporangio. Las paredes de los oogonios de Phytophthora son pigmentadas (Erwin y Ribeiro, 1996). A partir de ramificaciones hifales, denominadas zoosporangióforos, se forman los zoosporangios (Blackwell, 1943). En el interior de los zoosporangios se forman las zoosporas, esporas móviles, que luego son expulsadas a través del poro apical. Los zoosporangios y las zoosporas constituyen el estado asexual de las especies de Phytophthora. El estado sexual de Phytophthora es la segunda característica más importante e involucra la producción de dos gametangios morfológicamente diferenciados: el oogonio, estructura femenina y el anteridio, estructura masculina (Martin *et al.,* 2012). La fecundación del oogonio resulta en una única oospora, con una gran capacidad de supervivencia porque está rodeada por paredes gruesas. Los aislamientos de *Phytophthora capsici* son generalmente recuperados a partir de vegetales y raramente producen clamidosporas en medio de cultivo (Lamour *et al.,* 2012). Las características fisiológicas más destacadas de las especies de Phytophthora son: las temperaturas cardinales de crecimiento, la abundancia de esporulación en medios líquidos, el aspecto de las colonias en medios de cultivo y los engrosamientos hifales (Erwin y Ribeiro, 1996). *Phytophthora capsici* posee las siguientes temperaturas cardinales de crecimiento: la temperatura mínima para el crecimiento es 10°C, la óptima es 28°C y la máxima es mayor a 35°C (Erwin y Ribeiro, 1996).

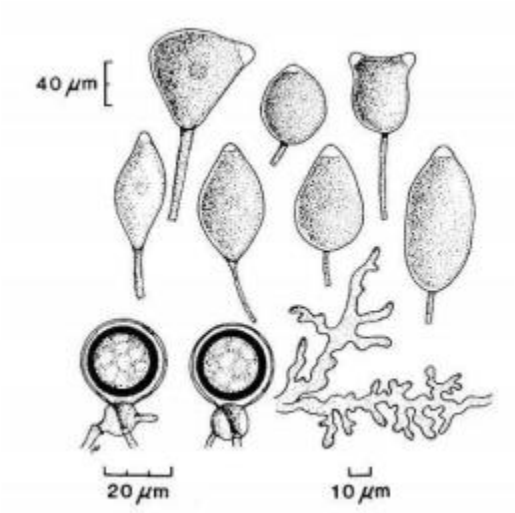

Figura N°4: Morfología de los tipos de esporas de Phytophthora Capsici. Parte superior: esporangios caducos con pedicelos largos y distintas formas de las papilas. Parte inferior: oogonios globosos con anteridios paraginos (oosporas pleroticas) y micelio.

(Fuente: Erwin y Ribeiro, 1996)

I.2.2. BIOLOGIA Y EPIDEMIOLOGIA DE P. capsici

Phytophthora capsici, como todas las especies de Phytophthora heterotálicas, requiere la presencia de los dos tipos de apareamiento para reproducirse en forma sexual y generar las oosporas como resultado del contacto gametangial (Erwin y Ribeiro, 1996). Los gametangios son producidos por los aislamientos parentales una vez que se inicia el estadio sexual. La reproducción sexual se desencadena por la producción de hormonas de estimulación; en el caso de las especies heterotálicas, un tipo de apareamiento las produce y las recepciona el opuesto. A continuación, se inicia el desarrollo de los gametangios femenino y masculino (Ko, 2007). Raramente produce clamidosporas por lo que las oosporas, cuando se producen, son las únicas estructuras de supervivencia y

se cree que son la fuente de inóculo inicial en el campo, en climas templados donde ambos tipos de apareamiento se encuentran presentes (Erwin y Ribeiro, 1996). Las oosporas probablemente se forman después de que los restos de cosecha permanecen varios meses en el campo (Hausbeck y Lamour, 2004). En las condiciones de cultivo esto implica que los restos son esparcidos y enterrados por el laboreo del suelo, por lo que difícilmente puedan ser recuperados. Cuando no se produce el ciclo sexual, este patógeno requiere de la presencia del hospedante (Lamour *et al.,* 2012). La infección de los hospedantes es producida por una hifa infectiva. La misma puede originarse a partir de una oospora, por la germinación directa de un zoosporangio o de un quiste que se formó a partir de una zoospora (Figura N°5). También se ha demostrado que la penetración en los tejidos del hospedante ocurre a través de los estomas y también en forma directa, mediante la ruptura de la epidermis del hospedante. El patógeno produce enzimas de maceración extracelulares, las que probablemente juegan un rol importante en ese proceso, así como en la colonización del tejido (Hausbeck y Lamour, 2004). El mismo, finalmente colapsa y esporula sobre la lesión. Bajo condiciones óptimas (25 a 30 °C y alta humedad relativa) el tiempo requerido para la manifestación de la enfermedad es de 2 a 3 días (Lamour *et al.*, 2012). Durante este período, la infección ocurre en dos etapas sucesivas diferentes; una inicial en la que las células parecen no ser afectadas (biotrófica) y una posterior en la que las células mueren por colapso (necrotrófica). Por tales características *P. capsici* es considerado un patógeno hemibiótrofo. Este comportamiento puede ocasionar que se cosechen frutos con infecciones latentes, manifestándose los síntomas en el período de almacenamiento y comercialización. Esto origina descartes que

resultan en grandes pérdidas económicas (Lamour *et al*., 2012). Los zoosporangios maduros pueden desprenderse y ser movilizados en forma vertical por el golpeteo de las gotas de agua (lluvia o riego por aspersión) u horizontal, cuando son arrastrados por el agua de escorrentía. Según las condiciones ambientales los zoosporangios pueden germinar en forma directa o indirecta. En este último caso su citoplasma se cliva, dando origen a 20 - 40 zoosporas (Erwin y Ribeiro, 1996). Las zoosporas nadan hacia las plantas atraídas por quimiotaxismo y se enquistan (Erwin y Ribeiro, 1996). Como consecuencia de estos modos de dispersión del patógeno, las plantas presentan con frecuencia infecciones múltiples, las que en el caso de *P. capsici* pueden corresponder a aislamientos de grupos de apareamiento opuestos. Si esto ocurre, la posibilidad de formación de oosporas se incrementa notablemente (Figura N°5) (Hausbeck y Lamour, 2004), aunque es raro que estén presentes ambos tipos de apareamiento en una misma planta (Erwin y Ribeiro, 1996). Es por esto por lo que, dependiendo de los casos, el inóculo primario puede estar constituido por el micelio que se encuentra colonizando restos de cultivos previos, como también por oosporas, con la ventaja evolutiva y epidemiológica que estas estructuras le confieren al patógeno (Hausbeck y Lamour, 2004). La reproducción sexual le otorga a Phytophthora la capacidad para sobrevivir en el suelo como oosporas y además incrementar la variabilidad genética por recombinación (Anderson, 2007). A diferencia de ésta, la reproducción asexual, que solo puede actuar sobre la composición genética total de un organismo, contribuye con el aumento del tamaño poblacional (Erwin y Ribeiro, 1996). Pero si bien la reproducción sexual puede ser limitada en el tiempo y en el espacio, la capacidad que posee para

reproducirse en forma asexual es explosiva (Erwin y Ribeiro, 1996), lo que contribuye a su potencial patogénico (Lamour *et al.,* 2012).

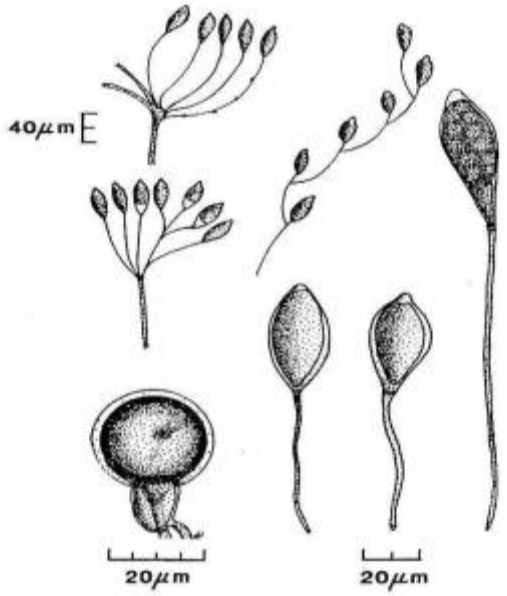

Figura N°5: Morfología de Phytophthora Capsici. Parte superior: la formación de esporangioforos en umbela y formación de esporangios en forma de simpodio. Parte inferior: con un oogonio con anteridios anfiginos que contiene una oospora globosa y esporangios caducos con largos pedicelos.

(Fuente: Erwin y Ribeiro, 1996)

I.2.3 SINTOMAS Y ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR P. capsici

La enfermedad producida por *P. capsici* se conoce como “tizón” y los síntomas asociados son marchitez, damping-off, podredumbre de raíz y cuello, lesiones en tallos y podredumbre de frutos. En condiciones favorables de humedad y temperatura este patógeno puede destruir completamente un cultivo, particularmente en aquellos lotes que presentan áreas bajas donde se acumula agua (Ristaino, 2000).

Las enfermedades suelen iniciarse en las áreas bajas del terreno donde el agua se acumula. Por esto, los productores frecuentemente asumen que el retraso en el crecimiento o la muerte de las plantas en estas áreas de debe a la saturación por agua de las raíces, cuando en realidad este patógeno es muchas veces la causa (Iribarren, 2015). Infecta a un amplio rango de hospedantes de Solanáceas y Cucurbitáceas en todo el mundo. Esta especie, como otras del género, produce una amplia variedad de síntomas que varían de acuerdo con el hospedante, la parte de la planta infectada y las condiciones del ambiente. En el cultivo de pimiento, causa la enfermedad conocida como “marchitez”, “tristeza” o “podredumbre del cuello y de la base del tallo”, siendo la más estudiada a nivel mundial para este patógeno. Bajo condiciones favorables, puede producir pérdidas económicas devastadoras afectando hasta un 100% de la superficie cultivada. En la expresión de los síntomas en plantas jóvenes se determinó que la infección de las raíces fue seguida por la de las coronas, aunque las plantas con frecuencia se marchitaran aún antes de evidenciar ese último síntoma. En plantas adultas, son susceptibles todos los órganos. En el caso del tallo, la infección puede ocurrir a cualquier altura, aunque es más común al nivel del suelo. Con frecuencia se observan plantas en producción muertas, esto se debe a lesiones en tallos o raíces. Las mismas comienzan como manchas castaño oscuro a negro, adquieren una consistencia aguanosa y producen estrangulamiento y finalmente la muerte de la planta. En hojas, el síntoma comienza como pequeñas manchas de forma irregular a redonda y de consistencia aguanosa, las que pueden alcanzar a los brotes emergentes y producir su marchitamiento. Los frutos del pimiento pueden ser infectados a través del pedúnculo. El síntoma es una

podredumbre que aparece como áreas verde oscuras de consistencia aguanosa, que luego son cubiertas por un moho de aspecto grasiento, blanco a parduzco. Con el tiempo, los frutos enfermos se tornan secos, arrugados, de color castaño y no se desprenden del tallo. En tomate, también afecta a todos los órganos. Las plantas jóvenes con frecuencia se marchitan, resultando más susceptibles durante las primeras cuatro semanas después del trasplante en el campo. Esto se debe a que las coronas son colonizadas y por esto la planta se puede marchitar y volcar. Las raíces pueden exhibir una podredumbre limitada; en estos casos las plantas permanecen relativamente asintomáticas (Hausbeck y Lamour, 2004). El síntoma más común es la podredumbre de frutos, los que pueden ser infectados a cualquier edad. Estos órganos son más afectados cuando están en contacto con el suelo. Las lesiones comienzan como manchas oscuras y aguanosas. Las mismas aumentan su tamaño rápidamente y cubren 50 % o más de la superficie de la fruta; en esta etapa pueden presentar círculos concéntricos, con distintas tonalidades de castaño. A través del tiempo y bajo condiciones húmedas las lesiones pueden ser cubiertas por un moho blanco. La planta entera de berenjena es susceptible a la enfermedad, pero la podredumbre de frutos es el síntoma más frecuente. Este comienza como un área circular, color castaño y puede ocurrir en cualquier estado de madurez del órgano. Las podredumbres del tallo tienen menor incidencia y las podredumbres de cuello y de raíces son poco importantes (Iribarren, 2015). Las especies de la familia Cucurbitáceas son altamente susceptibles al marchitamiento foliar y a la podredumbre por Phytophthora, especialmente *P. capsici.* Los síntomas tempranos incluyen lesiones en hojas de forma irregular, aguanosas, que se expanden rápidamente. La infección de las

coronas produce un rápido marchitamiento y posterior muerte de las plantas. En los frutos aparecen áreas hundidas, oscuras y aguanosas, las que son rápidamente cubiertas por moho. Además, puede infectar a los frutos en cualquier estado de desarrollo, inclusive durante el transporte y el almacenamiento (Zitter *et al.,* 2004). En el campo, la infección generalmente aparece primero en las áreas más bajas donde el suelo permanece húmedo por mayor tiempo. Bajo condiciones de clima templado, puede devastar plantaciones enteras de zapallos en el término de pocos días (Iribarren, 2015).

La enfermedad ocurre cuando un patógeno virulento y un hospedante susceptible se ponen en contacto, en un medio ambiente favorable, durante un período de tiempo. Por ello, es necesario conocer el ambiente donde se desarrolla la enfermedad para poder discriminar entre diferentes situaciones y caracterizar mejor la sintomatología asociada. Los factores ambientales que condicionan la iniciación y el desarrollo de las enfermedades infecciosas de las plantas son la temperatura y la humedad presente en la superficie de la planta (Agrios, 1997). Por lo tanto, su predisposición a la enfermedad por factores ambientales (no genéticos) incrementa la susceptibilidad a la enfermedad (Erwin y Ribeiro, 1996).

I.2.4. PRÁCTICAS TRADICIONALES PARA EL CONTROL DE P. capsici

Para el control de la enfermedad, se acude a diferentes estrategias y tácticas de control. Una práctica es utilizar la supresión, la cual consiste en la reducción del nivel de plaga o de daño a un nivel aceptable, de manera que no ocurran pérdidas económicas para el productor. Entre algunas medidas de supresión podemos mencionar la aplicación de sustancias microbianas, el uso de plaguicidas y

diversas sustancias de síntesis química. A su vez las tácticas de manejo utilizadas incluyen el control cultural orientadas a la prevención: preparación de suelo, ajuste de fechas de siembra, rotación de cultivos, eliminación de malezas que actúen como hospedantes y actividades sanitarias, todo ello para evitar el incremento de inóculo (Ristaino *et al.,* 1992). En el control químico, la clase fenilamina de fungicidas, que incluye al metalaxil, ha sido ampliamente utilizada en las últimas décadas en la producción de pimiento y de Cucurbitáceas en todo el mundo (Erwin y Ribeiro, 1996). El uso intensivo de este fungicida ha inducido a una presión selectiva en los aislamientos de *Phytophthora sp*., tal es el caso de *Phytophthora infestans* en Europa, donde la selección ocurrió en el término de un año desde la aplicación del fungicida (Goodwin *et al*., 1997). Lamour y Hausbeck (2000) estudiaron la resistencia de *P. capsici* al metalaxil y encontraron que estos patógenos son completamente resistentes cuando tienen dos copias del gen correspondiente. Es por esto, que los aislamientos con resistencia al metalaxil sólo se originan por reproducción sexual. De este modo se destaca la importancia de conocer la proporción de los tipos de apareamiento en una zona para establecer las alternativas de manejo de la enfermedad.

La mayoría de las prácticas preventivas utilizadas para el control apuntan a limitar la acumulación de agua en el terreno, pero cuando se dan las condiciones de humedad y temperatura favorables para el desarrollo de la enfermedad, no hay una práctica de control químico o cultural suficiente para limitarla. Para esto, son útiles los pronósticos que se basan en las condiciones medioambientales previas para el desarrollo de la enfermedad (Iribarren, 2015)

En el presente estudio, como alternativa que contemple la preservación del medio ambiente, el suelo y la sustentabilidad del sistema de producción, se propuso la utilización de fungicidas de origen biológico. Para ello, un producto recomendado para el control de diversas especies de *Phytophthora* es el quitosano.

I.3. *DESCRIPCIÓN DEL QUITOSANO Y FORMULADO COMERCIAL (QUITOSANO MAS COBRE)*

I.3.1 DEFINICIÓN

El quitosano, es un bio-polímero de amino-polisacáridos, compuesto por unidades distribuidas aleatoriamente de β-(1-4) D-glucosamina (unidades desacetiladas) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilatada). Se produce comercialmente mediante la desacetilación parcial de la quitina, que es un elemento estructural en el exoesqueleto de los crustáceos (cangrejos, gambas, langostas , etc.), así como en insectos. También se encuentra en las paredes celulares de hongos, como los pertenecientes a la clase *Zygomycetes*, en algas verdes como *Chlorella sp*., así como en algunas levaduras y protozoos (Raafat, 2009).

Es un bio-polímero no tóxico y bio-absorbible con la habilidad de formar soluciones gélicas a pH bajo (Ramírez *et al*, 2010).

I.3.2 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL QUITOSANO

Su producción es a partir de quitina y la especificidad de las quitosanasas. El quitosano es un 2 - amino - 2 - deoxi - β - d - glucano ligado (1 → 4), preparado a partir de quitina a través de la hidrólisis alcalina de los grupos N-acetilo. Tras una

hidrólisis adicional, por ejemplo, con la ayuda de quitosanasas, se producen oligosacáridos (Figura N°6).

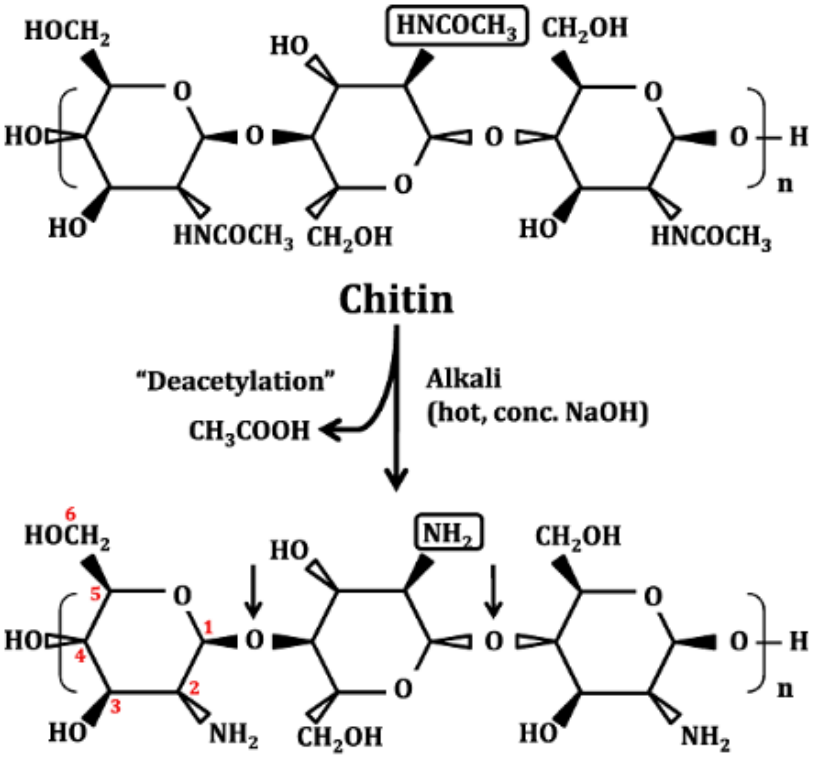

Figura N°6: Estructura química del quitosano.

(Fuente: Raafat, 2009)

I.3.3 FUENTES DE OBTENCIÓN

Actualmente la quitina se obtiene principalmente del exosqueleto de crustáceos industrialmente procesados, tales como langosta, cangrejo y camarón. El uso creciente de la quitina, así como de sus derivados, ha sido motivado por el hecho de que, al contrario de los derivados del petróleo, ésta se obtiene de los subproductos de las industrias pesqueras, fuente naturalmente renovable (al menos a largo plazo), no tóxica y no alergénica; además es, antimicrobiana y biodegradable (Pillai *et al.,* 2009).

Sin embargo, a pesar de su relativa abundancia, la presencia del quitosano como materia prima química es escasa ya que no se encuentra en estado puro en la naturaleza y rara vez llega a constituir el 50 % de una estructura. El gran interés por el uso de este compuesto natural, especialmente en la investigación, se debe a que las grandes cantidades de cáscara de camarón que se desechan anualmente en todo el mundo, alrededor de 120.000 toneladas, representan un problema medio ambiental serio, debido a su lenta degradación. Por las condiciones únicas que presenta el quitosano, tales como baja toxicidad, compatibilidad y bio-degradabilidad, los investigadores han desarrollado un extenso campo de aplicaciones que va desde los usos industriales hasta la medicina y como agente descontaminante de aguas (Nieto y Orellana, 2011).

I.3.4 PROPIEDADES DEL QUITOSANO

El grupo amino en el quitosano posee una ligera carga positiva, lo que le permite ser soluble en medios ácidos o en soluciones neutras; es un bio-adhesivo que puede ligarse a las superficies cargadas negativamente tales como las membranas mucosas; debido a esta propiedad física el quitosano permite el transporte de principios activos polares a través de las superficies epiteliales, siendo además bio-compatible y bio-degradable. Además, se destaca su capacidad de “secuestrar” iones metálicos de transición y post- transición la cual le otorga gran abanico de utilidades (Nieto y Orellana, 2011).

I.3.5 USOS EN LA AGRICULTURA

Resulta efectivo en el control de diversas enfermedades pudiendo actuar sobre el organismo patógeno, o inducir mecanismos defensivos en las plantas contra

varias enfermedades antes y después de la cosecha. La adición de quitosano al suelo favorece el crecimiento y la actividad de muchos organismos quitinolíticos favorecen el crecimiento y desarrollo de microorganismos beneficiosos que establecen relaciones simbióticas con las plantas, tales como las micorrizas o especies del género *Rhizobium sp* (Ramírez *et al.,* 2010).

En la agricultura moderna se hace cada vez más generalizado el uso del quitosano asociado a composiciones de fertilizantes protectores de semillas y planta, con el fin de lograr incrementar los rendimientos de los cultivos, debido a su excelente capacidad de formación de películas, bio-compatibilidad, no toxicidad, y efecto antifúngico. Se destaca el potencial en la encapsulación de embriones para preparar semillas artificiales; puede encapsularse juntamente con los nutrientes, factores de crecimiento de plantas, fungicidas, etc., formando una matriz protectora. Posee gran potencial como bio-estimulante ya que promueve la germinación y crecimiento de las plantas, además de aumentar su rendimiento. Induce los mecanismos de defensa de la planta convirtiéndolo en una herramienta muy eficaz para el control de plagas. Protege las partes tratadas de la planta del ataque de hongos, insectos, y nematodos; esto se logra por inducción de una barrera física en semillas y raíces, así como también mediante los mecanismos de activación de los genes de resistencia y activación de proteínas asociadas a respuestas de resistencias (Nieto y Orellana, 2011).

I.3.6 DESCRIPCIÓN DEL QUITOSANO MÁS COBRE (FORMULADO COMERCIAL)

Entre los fungicidas inorgánicos que se han empleado durante mucho tiempo en la agricultura, se encuentran los formulados a base de cobre que tienen la propiedad de actuar sobre las esporas coagulando el protoplasma celular (Cárdenas *et al*., 2004). Este elemento se encuentra entre los iones de metales pesados que actúan como elicitores químicos. Diversos estudios mostraron que efectivamente los derivados de quitina, el cobre y la combinación de ambos fueron capaces de afectar la esporulación de hongos (Cárdenas *et al.*, 2004).

Estudios en el control del hongo *Pyricularia grisea* demostraron que los formulados de mezcla de quitosano más cobre han tenido buen comportamiento en la esporulación, (quitosano más Cu 100 mg/litro) por su efecto inhibitorio al 100% (Cárdenas *et al.,* 2004).

El formulado comercial quitosano más cobre ("Raisan Cobre" utilizado en el presente estudio), presenta un mecanismo de acción que no está totalmente esclarecido, dado que puede atribuirse el efecto inhibitorio tanto al quitosano como al cobre. Se sabe que puede actuar de dos maneras: 1) Directamente sobre el microorganismo patógeno, a través de la alteración de la permeabilidad de la membrana plasmática, la interacción con ácidos nucleicos y la quelación de nutrientes. Esta actividad resulta en menor crecimiento del micelio y en la disminución de la formación y germinación de estructuras reproductivas y, 2) mediante la inducción de respuestas de tipo resistencia adquirida localizada (LAR) o SAR por parte del vegetal tratado (Grijalba *et al.,* 2016).

Especificaciones de la hoja de seguridad (ver Anexo):

Concentración de Quitosano: 1,7 % p/p - 2.0 % p/v.

Concentración como:

- Sulfato de cobre pentahidratado: 20.0 % p/p - 25.0 % p/v.
- Cobre (elemento): 5.0 % p/p - 6.2 % p/v.

I.3.7 MECANIMOS DE ACCIÓN DEL COBRE

Los fungicidas cúpricos fueron los primeros en ser utilizados comúnmente para el control de diversos hongos fitopatógenos. Los más utilizados son el caldo Bordelés y los fungicidas a base de oxicloruro de cobre y de óxido cuproso. Entre los fungicidas de contacto, los cúpricos tienen la ventaja de tener una buena tenacidad. Tienen la desventaja de tender a retrasar el desarrollo vegetativo de la planta, por ello se recomienda su utilización después de iniciada la floración. Su acción se desarrolla sobre los esporangios y las zoosporas en las que desnaturalizan enzimas de la cadena respiratoria, consiste en la inhibición de la transferencia de electrones en la respiración celular, el metabolismo energético en el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa afecta la germinación de las esporas (Tucuch, 2008).

Otra variante utilizada es el sulfato de cobre Pentahidratado, el cual actúa sobre el crecimiento del hongo. Su modo de acción consiste en la desnaturalización inespecífica de las proteínas celulares cuando las esporas fúngicas germinantes absorben los iones tóxicos de cobre (Reconco *et al.,* 2019). Pertenece al grupo químico inorgánico y actúa por contacto en varios sitios, inhibiendo la germinación de esporas, intoxicación y bloqueo de procesos respiratorios y disminuye la biosíntesis de proteínas (Andrade *et al*., 2018).

OBJETIVO GENERAL:

- ✓ Evaluar *in vitro* la sensibilidad a quitosano más cobre de aislamientos de *Phytophthora capsici* provenientes de suelos hortícolas cultivados con berenjena y zapallo de tronco.

OBJETIVO ESPECÍFICO:

- ✓ Evaluar *in vitro* el efecto inhibitorio del formulado comercial a base de quitosano más cobre sobre el crecimiento de *Phytophthora capsici.*
- ✓ Evaluar *in vitro* la sensibilidad de aislamientos disponibles de *Phytophthora capsici* a diferentes dosis del formulado comercial a base de quitosano más cobre.

HIPÓTESIS:

- ✓ El formulado comercial a base de quitosano más cobre inhibe el crecimiento de *Phytophthora capsici* patógeno de cultivos hortícolas.
- ✓ La dosis de aplicación recomendada de formulado comercial a base de quitosano más cobre, como regulador de crecimiento, inhibe el crecimiento de *Phytophthora capsici.*

MATERIALES Y MÉTODOS:

Para la obtención de aislamientos de *Phytophthora capsici* se emplearon cepas (aislamientos) provistas por el laboratorio de Fitopatología (UNLu), que fueron colectadas en las localidades de General Rodríguez y Luján en los meses de marzo a mayo durante tres años de muestreo. Las muestras provienen de suelos

cultivados con zapallito de tronco (*Cucurbita máxima var. zapallito)* y berenjena (*Solanum melongena)*.

Los aislamientos de *Phytophthora capsici* utilizados se seleccionaron a partir de los utilizados por Otero Matter (2017) que tuvieron una respuesta intermedia en el control con Metalaxil:

A) “B19BP1C1”
B) “B13BERP1C1”
C) “JUST B20P1C1”
D) “AGUSTIN CBERP1”
E) “JUST B18P2C1”
F) “JUST B16BP2C2”
G) “JUST Z18ZP2C1”
H) “JUST Z19P1C1”
I) “OLIV Z11L3ZP2C3”
J) “JUST B21BP1C1”

Se utilizaron diferentes dosis del producto en base a recomendaciones bibliográficas y de marbete, las cuales fueron adicionadas al medio de cultivo Agar V8 previo a su distribución en placas de Petri. El cultivo de agar V8 fue preparado por los técnicos del laboratorio de Fitopatología de la UNLu.

Las cepas de *Phytophthora capsici* se sembraron en placas de Petri con agar avena (OA) y se incubaron en oscuridad durante 7 días a 24°C ± 2°C. Posteriormente, bajo las condiciones del flujo laminar/ campana de laboratorio “Aura mini” (figura n°7 y Anexo) se tomaron discos de micelio de 0,9 cm de

diámetro de los márgenes de las colonias en activo crecimiento y se sembraron en el centro de las placas de Petri con agar “V8” (AV8) adicionadas con las diferentes dosis de quitosano más cobre. Estas placas se llevaron a estufa de cultivo “Fac Digital” (figura n°8 y Anexo) y se incubaron durante 7 días en oscuridad a 24°C ± 2°C, al cabo de los cuales se midió el diámetro de las colonias para cada tratamiento y repetición.

Se realizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial de dos factores: “dosis” y “aislamientos”. El factor “dosis” constituido de 4 niveles denominados “T0”, “T1”, “T2” y “T3” con las respectivas dosis en base al formulado comercial: 0 ppm, 1000 ppm, 2000ppm y 4000 ppm y el factor “aislamientos” constituido originalmente por 10 niveles correspondiendo a 10 aislamientos (cepas) de *Phytophthora capsici.* Por cada tratamiento se realizaron 3 repeticiones. Teniendo en cuenta que el formulado comercial utilizado tiene un 2% de quitosano y un 6,2% de cobre quelatado, es por ello por lo que las dosis utilizadas, según recomendación del fabricante son 0,1% (1000 ppm), 0,2% (2000 ppm), y 0,4% (4000 ppm). A su vez esas dosis son equivalentes a decir para 0,1% = 1000 ppm del formulado comercial = 20 ppm de quitosano = 20 mg de quitosano/litro de caldo; para 0;2% = 2000 ppm del formulado comercial = 40 ppm quitosano = 40 mg de quitosano / litro de caldo y para 0,4% = 4000 ppm del formulado comercial = 80 ppm de quitosano = 80 mg de quitosano / litro de caldo.

Los tratamientos se llevaron a cabo y se analizaron en tandas de a dos aislamientos por vez, debido a la capacidad de la estufa:

A) Aislamientos 1° incubación: “JUSTB19BP1C1” - “TASISB13BERP1C1”.

B) Aislamientos 2° incubación: “AGUSTIN CBERP1” - “JUST B20P1C1”.

C) Aislamientos 3° incubación: “JUST B18P2C1” - “JUST B16BP2C2”.

D) Aislamientos 4° incubación: “JUST Z18ZP2C1” - “JUST Z19P1C1”.

E) Aislamientos 5° incubación: “OLIV Z11L3ZP2C3” - “JUST B21BP1C1”

Para el cálculo del porcentaje de crecimiento se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de crecimiento} = \frac{\text{diametro de tratamiento}}{\text{diametro de testigo}} * 100$$

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y test de comparación de medias ($p \leq 0,05$) mediante el programa “Infostat” (Di Rienzo *et al*., 2018).

Se determinó la sensibilidad de los aislamientos a quitosano más cobre en base al formulado comercial y tomando como parámetro el porcentaje de crecimiento, respecto de los testigos sin aplicación de formulado comercial, según la escala propuesta por Shattock (1988) en la cual se consideró:

Sensible (S):	Menor del 10% del crecimiento del testigo
Intermedio (I):	Entre 10 y 60 % del crecimiento del testigo
Resistente (R):	Mayor del 60% del crecimiento del testigo

El trabajo se llevó a cabo en las instalaciones de los laboratorios de Fitopatología (obtención de aislamientos a evaluar) y de Protección Vegetal de la Universidad Nacional de Luján.

Los equipos para la siembra (Figura N°7) e incubación (Figura N°8) utilizados fueron:

Figura n°7: flujo laminar o campana de laboratorio “Aura Mini”.

Figura N°8: Estufa "Fac" De Cultivo Digital.

RESULTADOS:

A partir de los datos obtenidos en los ensayos, se observa que todos los tratamientos respondieron a la aplicación del formulado comercial a base de quitosano más cobre cuyos crecimientos fueron inhibidos en diferente magnitud según los aislamientos (cepas) analizados, como se puede ver en la tabla 1 y representados gráficamente en la figura n°9. Todos los tratamientos testigos (correspondientes a cada aislamiento) mostraron un crecimiento total. Algunos aislamientos respondieron fuertemente a la dosis de aplicación de 2000 ppm/ 0,2% de formulado comercial (dosis recomendada en marbete) inhibiendo totalmente el crecimiento, mientras que otros tratamientos si bien mostraron respuesta a la aplicación del formulado, fue diferente la respuesta según el aislamiento de cepa y la dosis considerada.

Para la dosis de 4000 ppm, todos los tratamientos mostraron diferencia significativa respecto del testigo con crecimientos entre 0% y 30%, pero sólo en tres de los 10 aislamientos la inhibición fue total: “AGUSTIN CBERP1”, “JUST B16BP2C2” y “JUST B21BP1C1” (tablas 1 y 2).

Para la dosis de 2000 ppm (dosis recomendada como regulador del crecimiento), todos los tratamientos mostraron diferencia significativa respecto del testigo con crecimientos que variaron entre un 3% y un 44%, en este caso existiendo una inhibición total en solo un tratamiento: “JUST B21BP1C1” (tablas 1 y 2).

Para la dosis de 1000 ppm, todos los tratamientos mostraron diferencia significativa respecto del testigo con crecimientos entre un 8% y un 52%, no habiendo inhibición total en ningún tratamiento (tablas 1 y 2).

Tabla N° 1: Promedio de porcentaje de crecimiento por tratamiento (aislamiento y dosis) respecto del testigo.

AISLAMIENTO	DOSIS	% DE CRECIMIENTO
JUST B19BP1C1	0	100
	1000	34
	2000	27
	4000	11
TASIS B13BERP1C1	0	100
	1000	8
	2000	4
	4000	1
JUST B20P1C1	0	100
	1000	38
	2000	37
	4000	29
AGUSTIN CBERP1	0	100
	1000	11
	2000	6
	4000	0
JUST B18P2C1	0	100
	1000	22
	2000	37
	4000	29
JUST B16BP2C2	0	100
	1000	8
	2000	5
	4000	0
JUST Z18ZP2C1	0	100
	1000	21
	2000	9
	4000	6
JUST Z19P1C1	0	100
	1000	19
	2000	3
	4000	2
OLIV Z11L3ZP2C3	0	100
	1000	52
	2000	44

	4000	3
JUST B21BP1C1	0	100
	1000	52
	2000	0
	4000	0

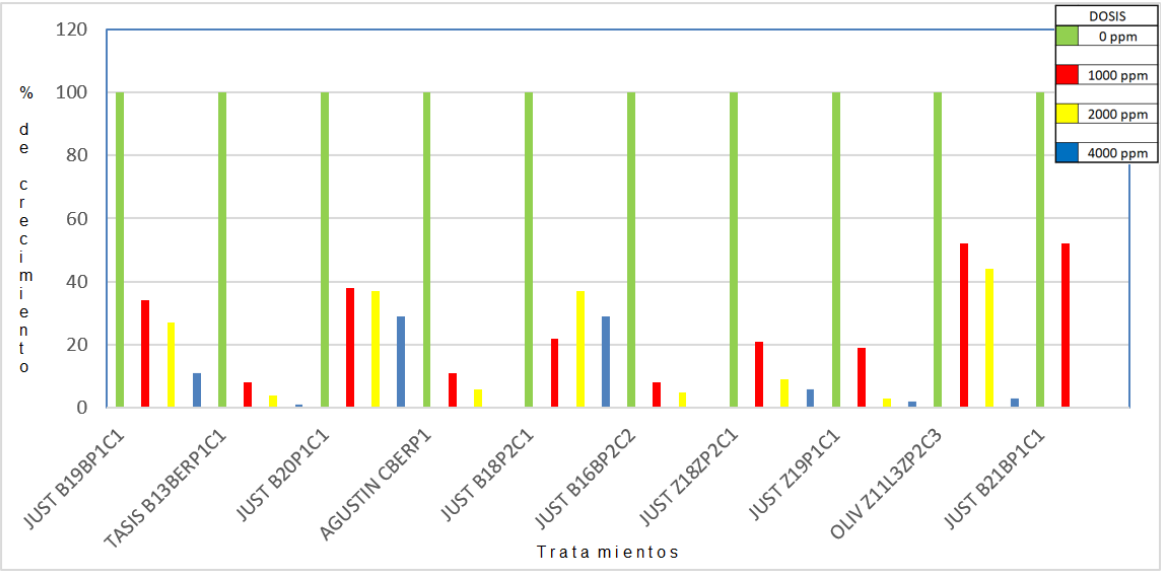

Figura n°9: Gráfico de porcentaje de crecimiento por tratamiento (aislamiento y dosis) respecto del testigo para todos los aislamientos.

Tabla N°2: ANOVA completo de todos los tratamientos:

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.				
AGUSTIN CBERP1	4000	0,00	3	2,61	A			
JUST B21BP1C1	2000	0,00	3	2,61	A			
JUST B16BP2C2	4000	0,00	3	2,61	A			
JUST B21BP1C1	4000	0,00	3	2,61	A			
B13BERP1C1	4000	1,20	3	2,61	A			
JUST Z19P1C1	4000	2,29	3	2,61	A			
JUST Z19P1C1	2000	3,07	3	2,61	A			
OLIV Z11L3ZP2C3	4000	3,49	3	2,61	A			
B13BERP1C1	2000	4,22	3	2,61	A	B		
JUST B18P2C1	4000	5,22	3	2,61	A	B		
JUST B16BP2C2	2000	5,43	3	2,61	A	B		
AGUSTIN CBERP1	2000	5,67	3	2,61	A	B		
JUST Z18ZP2C1	4000	5,77	3	2,61	A	B		
JUST B16BP2C2	1000	8,15	3	2,61	A	B	C	
B13BERP1C1	1000	8,43	3	2,61	A	B	C	
JUST Z18ZP2C1	2000	8,56	3	2,61	A	B	C	
AGUSTIN CBERP1	1000	11,08	3	2,61	A	B	C	
B19BP1C1	4000	11,18	3	2,61	A	B	C	
JUST B18P2C1	2000	13,91	3	2,61	A	B	C	D
JUST Z19P1C1	1000	18,72	3	2,61		B	C	D
JUST Z18ZP2C1	1000	20,94	3	2,61			C	D E

JUST B18P2C1	1000	21,96	3	2,61		C	D	E	F			
B19BP1C1	2000	27,22	3	2,61			D	E	F	G		
JUST B20P1C1	4000	28,64	3	2,61			D	E	F	G		
B19BP1C1	1000	33,97	3	2,61				E	F	G	H	
JUST B20P1C1	2000	36,54	3	2,61					F	G	H	
JUST B20P1C1	1000	38,02	3	2,61						G	H	I
OLIV Z11L3ZP2C3	2000	43,82	3	2,61							H	I
JUST B21BP1C1	1000	52,00	3	2,61								I
OLIV Z11L3ZP2C3	1000	52,46	3	2,61								I
OLIV Z11L3ZP2C3	0	100,00	3	2,61									J
AGUSTIN CBERP1	0	100,00	3	2,61									J
JUST Z19P1C1	0	100,00	3	2,61									J
JUST B20P1C1	0	100,00	3	2,61									J
B19BP1C1	0	100,00	3	2,61									J
JUST B18P2C1	0	100,00	3	2,61									J
JUST Z18ZP2C1	0	100,00	3	2,61									J
B13BERP1C1	0	100,00	3	2,61									J
JUST B21BP1C1	0	100,00	3	2,61									J
JUST B16BP2C2	0	100,00	3	2,61									J

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Considerando que el ensayo fue llevado a cabo de a dos asilamientos por vez debido a la capacidad de la estufa de cultivo, corresponde que el análisis estadístico de los datos se realice respetando los mismos pares de aislamientos. A continuación, se presentan los diferentes análisis correspondientes a las cinco incubaciones.

• Aislamientos de la 1° incubación: “JUST B19BP1C1” - “TASIS B13BERP1C1”.

Tabla N° 3: ANOVA correspondiente a los aislamientos “JUST B19BP1C1” – “TASIS B13BERP1C1”:

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Crecimiento (%)	24	0,99	0,99	11,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	35608,93	7	5086,99	300,22	<0,0001
Aislamiento	1283,67	1	1283,67	75,76	<0,0001
Dosis	33688,39	3	11229,46	662,73	<0,0001
Aislamiento*Dosis	636,88	3	212,29	12,53	0,0002
Error	271,11	16	16,94		
Total	35880,04	23			

Tabla N° 4: Test de comparación de medias entre aislamientos “JUST B19BP1C1” – “TASIS B13BERP1C1”:

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=11,63618

Error: 16,9442 gl: 16

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.			
TASISB13BERP1C1	4000	1,20	3	2,38	A		
TASISB13BERP1C1	2000	4,22	3	2,38	A		
TASISB13BERP1C1	1000	8,43	3	2,38	A		
JUSTB19BP1C1	4000	11,18	3	2,38	A		
JUSTB19BP1C1	2000	27,22	3	2,38		B	
JUSTB19BP1C1	1000	33,97	3	2,38		B	
TASISB13BERP1C1	0	100,00	3	2,38			C
JUSTB19BP1C1	0	100,00	3	2,38			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

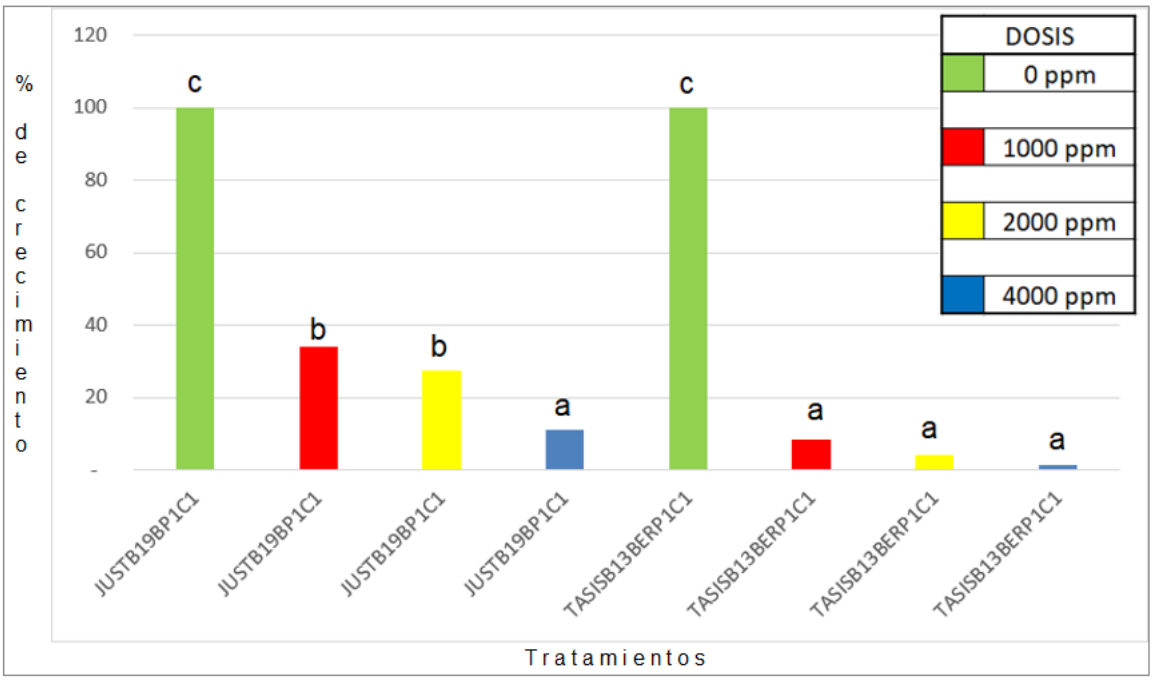

Figura n°10: Gráfico de porcentaje de crecimiento por tratamiento (aislamiento y dosis) respecto del testigo correspondiente a los aislamientos “JUST B19BP1C1” – “TASIS B13BERP1C1”.

A partir del análisis de varianza (tabla 3), se observa que existe una interacción significativa $p<0.0002$, indicando que no todos los tratamientos respondieron de igual manera a las diferentes dosis.

A partir de la comparación de medias (tabla 4) se desprende que el aislamiento “TASISB13BERP1C1” mostró una mayor sensibilidad al quitosano más cobre, con

valores que van del 1,20% al 8,43% de crecimiento respecto del testigo en tanto que el aislamiento “JUST B19P1C1” alcanzó crecimientos que variaron entre 11,18% y 33,97%, diferenciándose estadísticamente entre ellos.

Se observa que no hubo diferencia estadística significativa entre las tres dosis para el aislamiento “TASISB13BERP1C1” y la dosis mayor para el aislamiento “JUSTB19BP1C1” (4000 ppm). Pero sí existe diferencia estadística significativa respecto de las dosis de 2000 ppm y 1000 ppm para el aislamiento “JUSTB19P1C1” así como respecto de ambos testigos.

En las figuras 9 y 10 se puede observar el desarrollo de las colonias de cada aislamiento respectivamente.

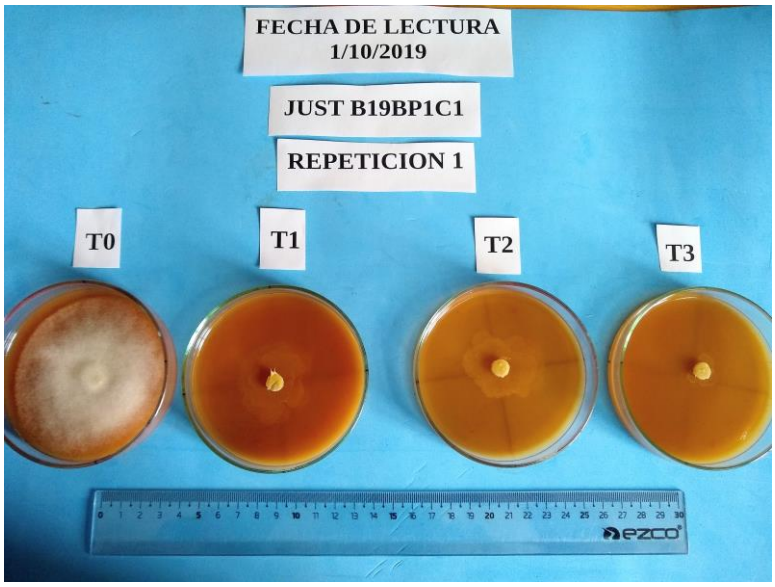

Figura N°11: Crecimiento del aislamiento “JUST B19BP1C1” luego de 7 días de incubación – Repetición 1. Referencias T0, T1, T2, T3.

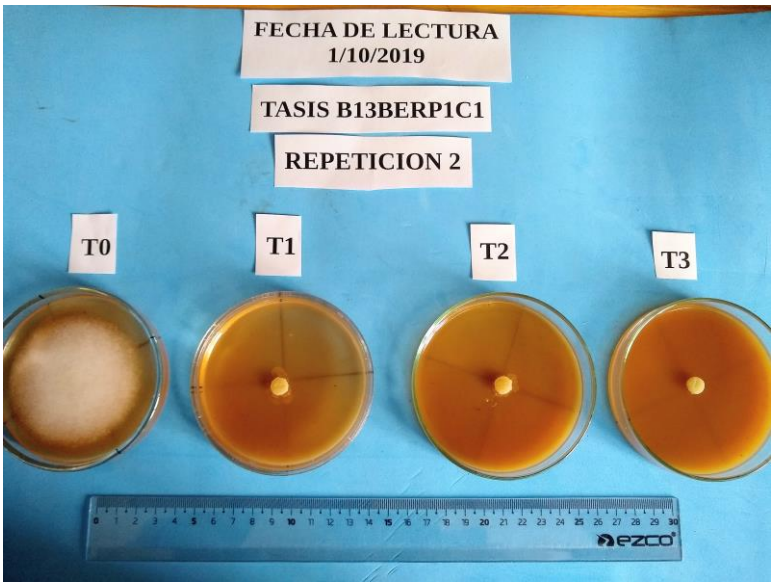

Figura N°12: Crecimiento del aislamiento "TASIS B13BERP1C1" luego de 7 días de incubación – Repetición 2.

• Aislamientos de la 2° incubación: "AGUSTIN CBERP1" - "JUST B20P1C1".

Tabla N° 5: ANOVA de aislamientos "AGUSTIN CBerP1" – "JUST B20P1C1"

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Crecimiento (%)	24	1,00	1,00	5,09

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	33377,12	7	4768,16	1172,85	<0,0001
Aislamiento	2994,08	1	2994,08	736,47	<0,0001
Dosis	29367,00	3	9789,00	2407,86	<0,0001
Aislamiento*Dosis	1016,04	3	338,68	83,31	<0,0001
Error	65,05	16	4,07		
Total	33442,17	23			

Tabla N° 6: Test de comparación de medias entre aislamientos "AGUSTIN CBerP1" – "JUST B20P1C1"

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=5,69972

Error: 4,0654 gl: 16

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.		
AGUSTIN CBerP1	4000	1,20	3	1,16	A	
AGUSTIN CBerP1	2000	4,22	3	1,16	A	B
AGUSTIN CBerP1	1000	8,43	3	1,16		B

JUST B20P1C1	4000	28,64	3	1,16		C		
JUST B20P1C1	2000	36,54	3	1,16			D	
JUST B20P1C1	1000	38,02	3	1,16			D	
AGUSTIN CBerP1	0	100,00	3	1,16				E
JUST B20P1C1	0	100,00	3	1,16				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

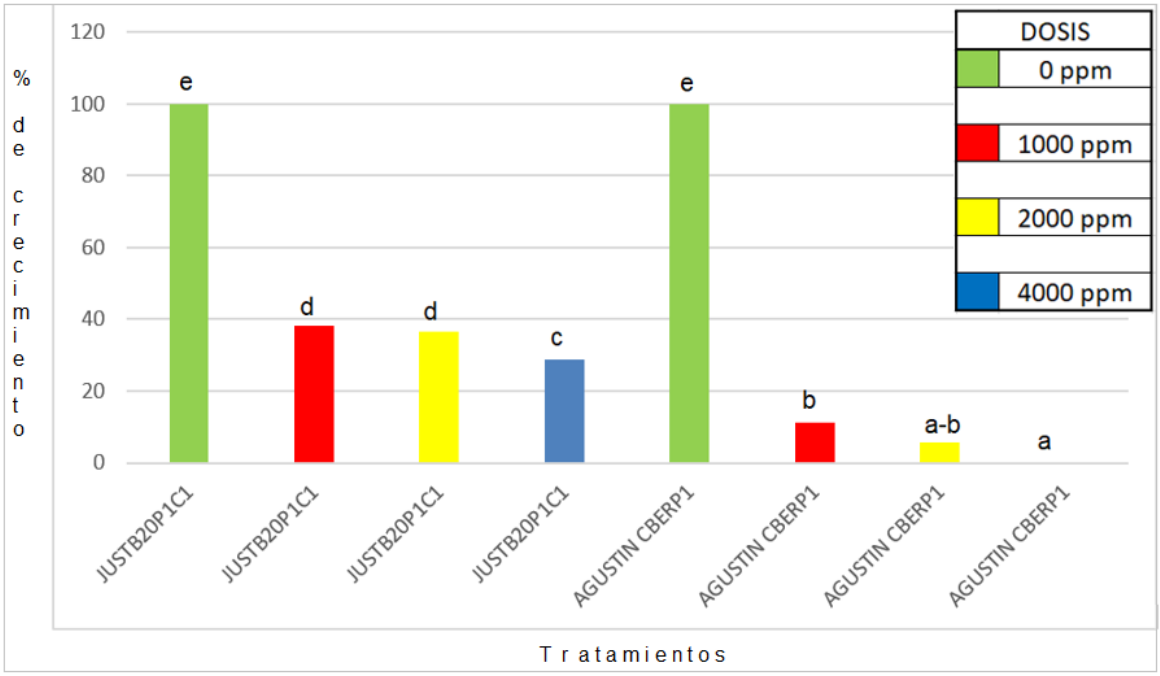

Figura n°13: Gráfico de porcentaje de crecimiento por tratamiento (aislamiento y dosis) respecto del testigo correspondiente a los aislamientos "AGUSTIN CBERP1" - "JUST B20P1C1".

A partir del análisis de varianza (tabla 5) y el test de Tukey (tabla 6), se observa que existe una interacción significativa $p < 0.0001$. El aislamiento "AGUSTIN CBerP1" arrojó una mayor sensibilidad al formulado con valores que van del 1,20% al 8,43% de crecimiento respecto del testigo, en tanto que el aislamiento "JUSTB20BP1C1" mostró una menor sensibilidad al formulado con valores entre 28,64% y 38,02% de crecimiento. Se observa que no hubo diferencia estadística significativa entre los tratamientos del aislamiento "AGUSTINCBerP1" dosis de 4000 ppm y 2000 ppm, así como tampoco entre la dosis de 2000 ppm y la dosis de 1000 ppm. En este sentido cabe señalar que sí existió una diferencia estadísticamente significativa respecto de la respuesta del aislamiento AGUSTIN

CBerP1” a las tres dosis correspondientes y la respuesta del aislamiento “JUSTB20P1C1”. A su vez para este último aislamiento se observa diferencia significativa entre la dosis mayor de 4000 ppm y las dosis de 2000 ppm y 1000 ppm, sin diferencias entre sí. Para ambos aislamientos todos los tratamientos se diferenciaron estadísticamente de los testigos.

En las figuras 11 y 12 se puede observar el desarrollo de las colonias de cada aislamiento y su comparación con el testigo respectivo.

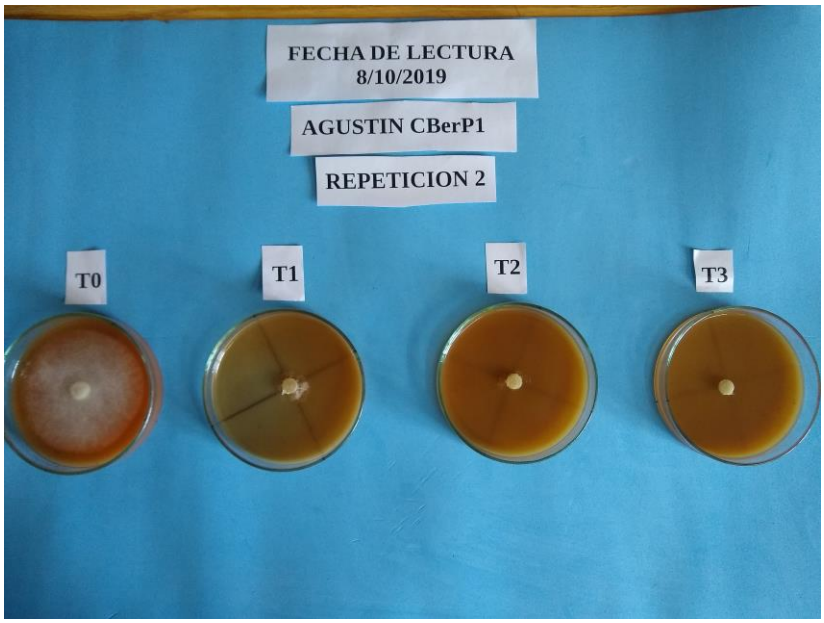

Figura N°14: Crecimiento del aislamiento “AGUSTIN CBerP1” luego de 7 días de incubación – Repetición 2.

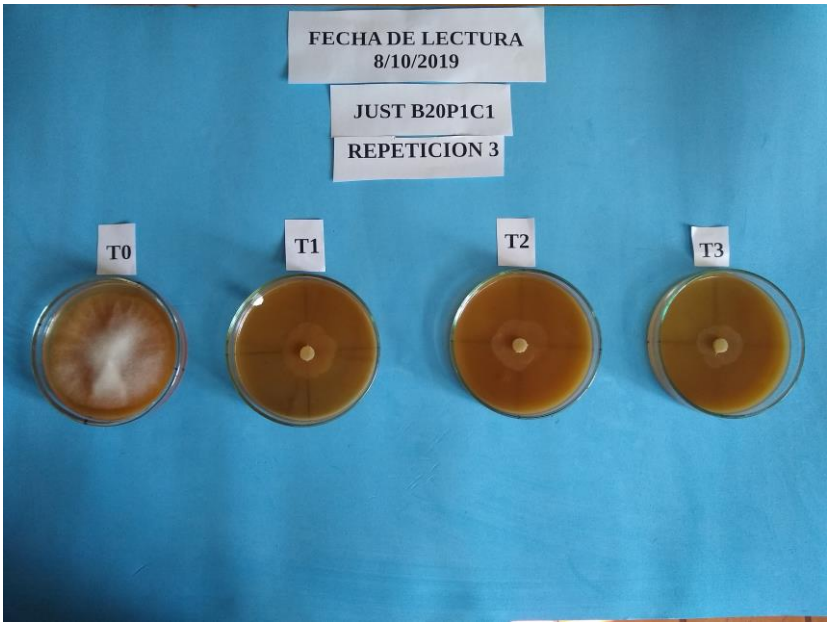

Figura N°15: Crecimiento del aislamiento "JUST B20P1C1" luego de 7 días de incubación – Repetición 3.

• Aislamientos de la 3° incubación: "JUST B18P2C1" - "JUST B16BP2C2"

Tabla N°7: ANOVA aislamientos "JUST B16BP2C2" – "JUST B18P2C1"

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Crecimiento (%)	24	1,00	1,00	7,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	38075,58	7	5439,37	1022,80	<0,0001
Aislamiento	283,73	1	283,73	53,35	<0,0001
Dosis	37640,85	3	12546,95	2359,29	<0,0001
Aislamiento*Dosis	151,00	3	50,33	9,46	0,0008
Error	85,09	16	5,32		
Total	38160,67	23			

Tabla N° 8: Test de comparación de medias entre aislamientos "JUST B16BP2C2" – "JUST B18P2C1"

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=6,51896

Error: 5,3181 gl: 16

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.		
JUST B16BP2C2	4000	0,00	3	1,33	A	
JUST B18P2C1	4000	5,22	3	1,33	A	B

JUST B16BP2C2	2000	5,43	3	1,33	A	B			
JUST B16BP2C2	1000	8,15	3	1,33		B	C		
JUST B18P2C1	2000	13,91	3	1,33			C		
JUST B18P2C1	1000	21,96	3	1,33				D	
JUST B18P2C1	0	100,00	3	1,33					E
JUST B16BP2C2	0	100,00	3	1,33					E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

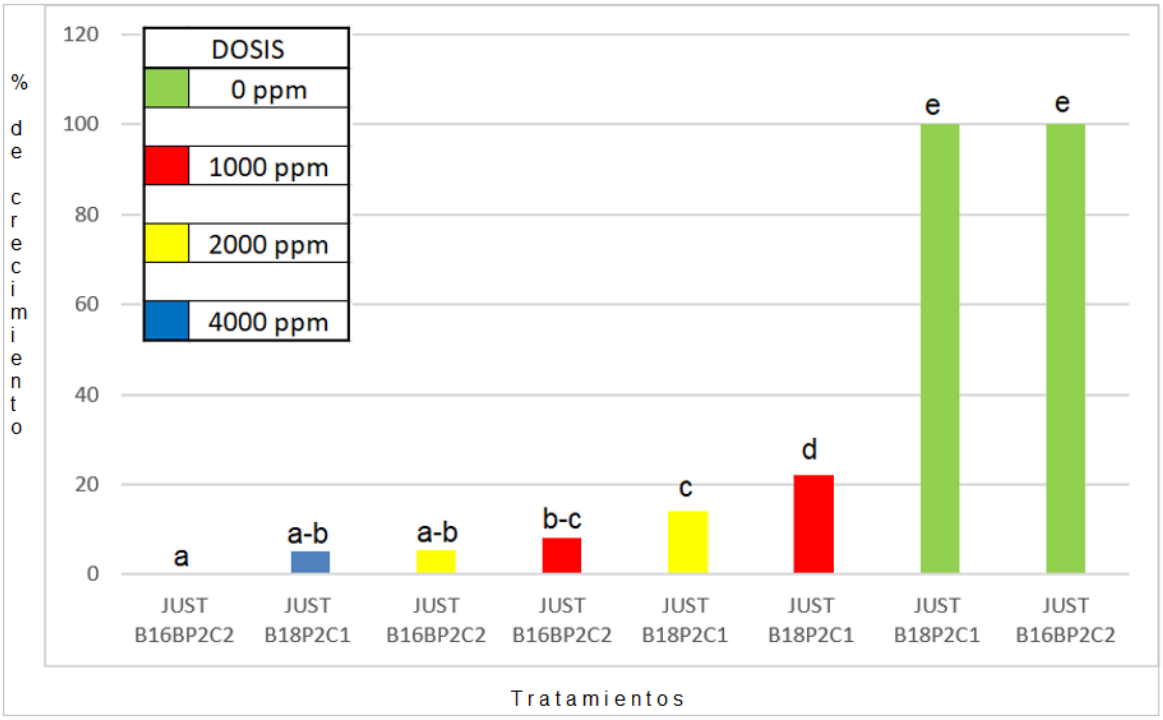

Figura n°16: Gráfico de porcentaje de crecimiento por tratamiento (aislamiento y dosis) respecto del testigo correspondiente a los aislamientos "JUST B18P2C1" - "JUST B16BP2C2".

A partir del análisis de varianza y el test de comparación de medias (tablas 7 y 8), se observa que existe interacción significativa (p<0.0008) entre los factores aislamientos y las dosis.

Los porcentajes de crecimiento respecto del testigo para el aislamiento "JUST B16BP2C2" arrojaron valores que van del 0% al 8,15%, en tanto que para el aislamiento "JUST B18P2C1" oscilaron entre un mínimo de 5,22% para la dosis de 4000 ppm y un máximo de 21,26% para la dosis de 1000 ppm. Se observa que no hubo diferencia estadística significativa en la respuesta de ambos aislamientos a la dosis de 4000 ppm y tampoco para la dosis de 2000 ppm del aislamiento "JUST B16BP2C2". Claramente se observa diferencia estadística significativa

entre los testigos y el tratamiento correspondiente a la dosis más baja (1000 ppm) del aislamiento “JUST B18P2C1”.

En las figuras 13 y 14 se puede observar el desarrollo de las colonias de cada aislamiento, según tratamientos.

Figura N°17: Crecimiento del aislamiento “JUST B18P2C1” luego de 7 días de incubación – Repetición 1.

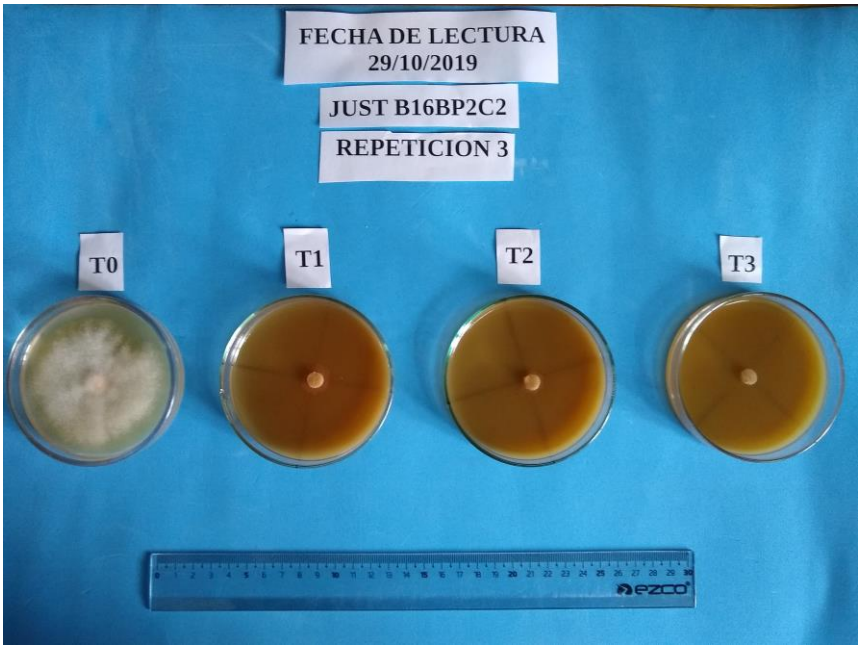

Figura N° 18: Crecimiento del aislamiento “JUST B16BP2C2” luego de 7 días de incubación – Repetición 3.

• Aislamientos de la 4° incubación: “JUST Z18ZP2C1” - “JUST Z19P1C1”.

Tabla N° 10: Test de comparación de medias para el factor aislamiento “JUST Z18ZP2C1” – “JUST Z19P1C1”

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,80863

Error: 19,3667 gl: 16

Aislamiento	Medias	n	E.E.	
JUST Z19P1C1	31,02	12	1,27	A
JUST Z18ZP2C1	33,82	12	1,27	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Tabla N° 11: Test de comparación de medias para el factor dosis con los aislamientos “JUST Z18ZP2C1” – “JUST Z19P1C1”

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,26922

Error: 19,3667 gl: 16

Dosis	Medias	n	E.E.			
4000	4,03	6	1,80	A		
2000	5,82	6	1,80	A		
1000	19,83	6	1,80		B	
0	100,00	6	1,80			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

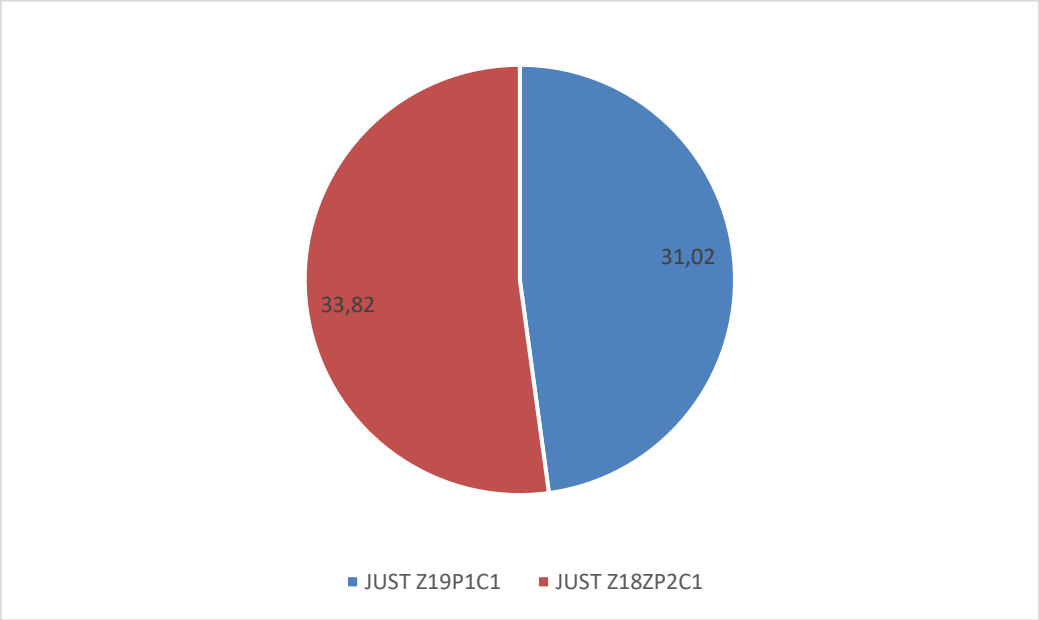

Figura n°19: Gráfico de crecimiento por aislamiento correspondiente a “JUST Z18ZP2C1” - “JUST Z19P1C1”.

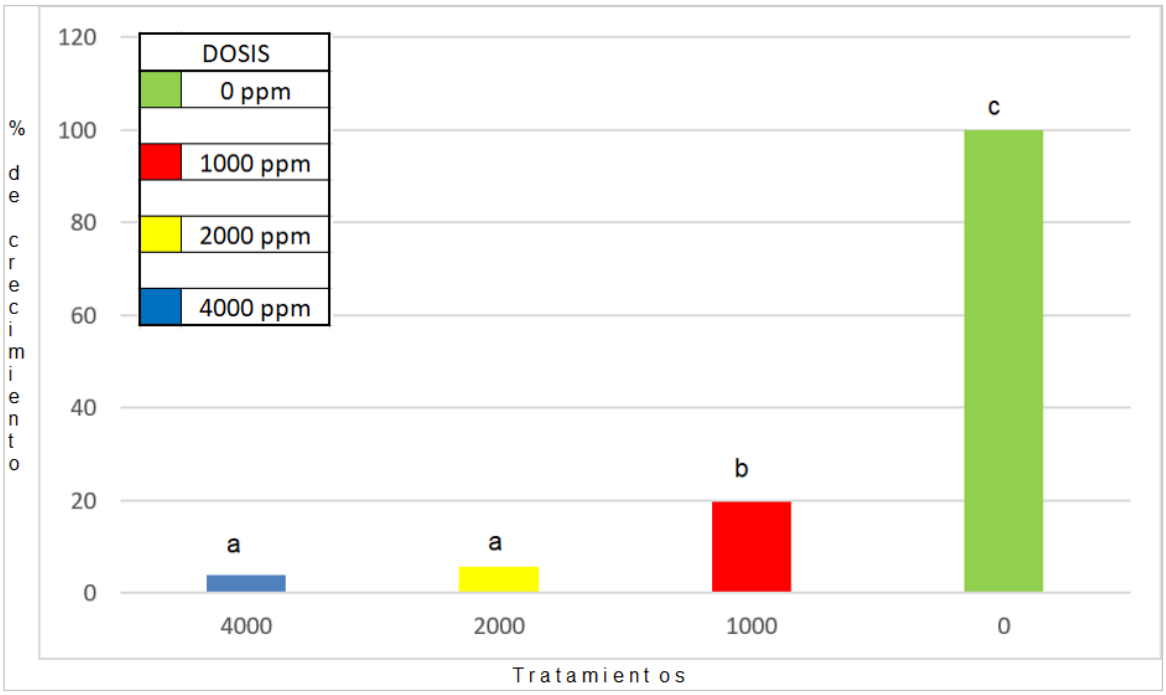

Figura n°20: Gráfico de porcentaje de crecimiento por dosis respecto del testigo correspondiente a los aislamientos "JUST Z18ZP2C1" - "JUST Z19P1C" en conjunto.

A partir del análisis de las tablas 10 y 11, se observa que no hubo interacción significativa por lo que corresponde analizar los factores (dosis y aislamientos) por separado.

Respecto a los aislamientos, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre sí, con porcentajes de crecimiento entre 31,02% para el aislamiento "JUST Z19P1C1" y 33,82% para el aislamiento "JUST Z18ZP2C1".

Respecto a las dosis se puede apreciar que, a mayor dosis, mayor es la sensibilidad del hongo. No se observan diferencias estadísticas significativas entre las dosis de 2000 ppm y 4000 ppm, pero si respecto de la dosis de 1000 ppm, con un 19,83% de crecimiento respecto del testigo.

En las figuras 15 y 16 se puede observar el desarrollo de las colonias de cada aislamiento respectivamente y para cada tratamiento incluido el testigo.

Figura N°21: Crecimiento del aislamiento "JUST Z18ZP2C1" luego de 7 días de incubación – Repetición 3.

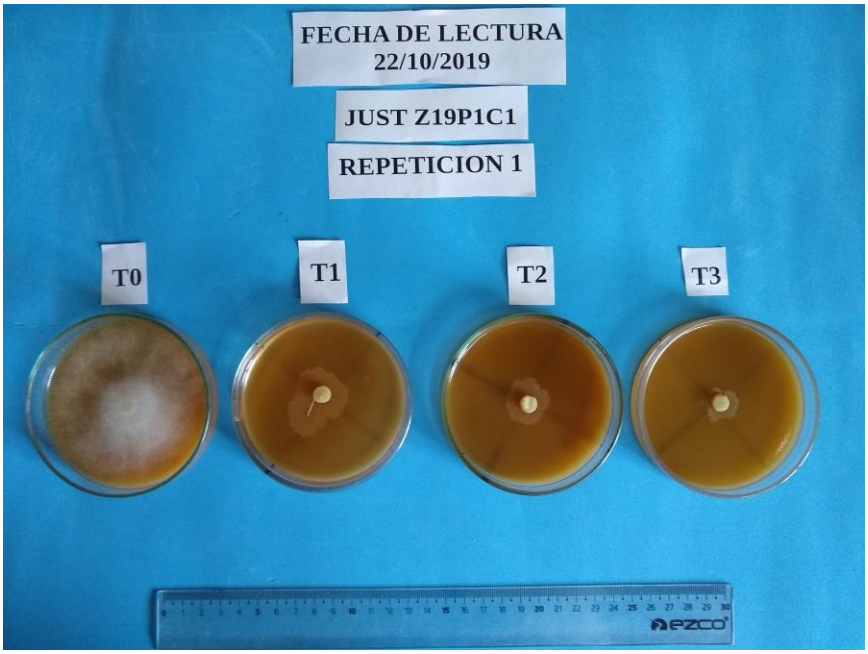

Figura N° 22: Crecimiento del aislamiento "JUST Z19ZP1C1" luego de 7 días de incubación – Repetición 1.

• Aislamientos de la 5° incubación: "OLIV Z11L3ZP2C3" - "JUST B21BP1C1"

Tabla N° 12: ANOVA de aislamientos "OLIV Z11L3ZP2C3" – "JUST B21BP1C1"

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Crecimiento (%)	24	0,98	0,96	17,01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	35762,14	7	5108,88	91,33	<0,0001
Aislamiento	855,98	1	855,98	15,30	0,0012
Dosis	32862,82	3	10954,27	195,82	<0,0001
Aislamiento*Dosis	2043,34	3	681,11	12,18	0,0002
Error	895,06	16	55,94		
Total	36657,20	23			

Tabla N° 13: Test de comparación de medias para aislamiento "OLIV Z11L3ZP2C3" – "JUST B21BP1C1"

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=21,14297

Error: 55,9412 gl: 16

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.			
JUST B21BP1C1	4000	0,00	3	4,32	A		
JUST B21BP1C1	2000	0,00	3	4,32	A		
OLIV Z11L3ZP2C3	4000	3,49	3	4,32	A		
OLIV Z11L3ZP2C3	2000	43,82	3	4,32		B	
JUST B21BP1C1	1000	52,00	3	4,32		B	
OLIV Z11L3ZP2C3	1000	52,46	3	4,32		B	
OLIV Z11L3ZP2C3	0	100,00	3	4,32			C
JUST B21BP1C1	0	100,00	3	4,32			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

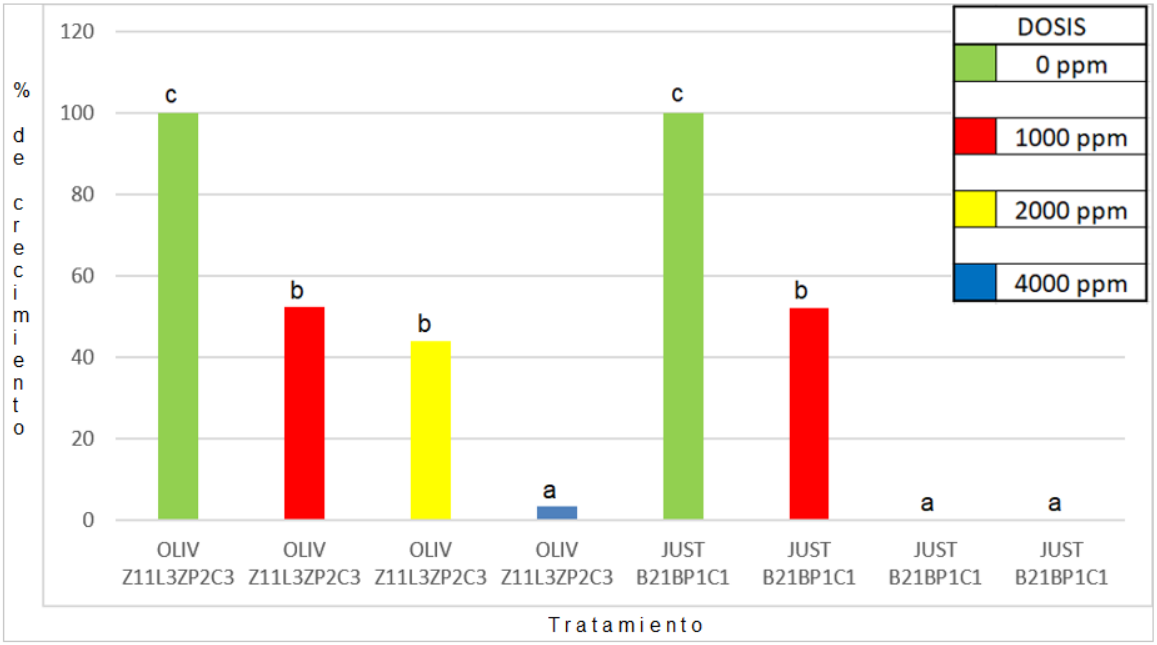

Figura n°23: Gráfico de crecimiento por tratamiento (aislamiento y dosis) respecto del testigo (expresado en porcentaje) correspondiente a los aislamientos "OLIV Z11L3ZP2C3" - "JUST B21BP1C1".

A partir del análisis de varianza (tabla 12), se observa que existe una interacción significativa ($p<0.0012$), indicando que no todos los tratamientos respondieron de igual manera a las diferentes dosis.

A partir del test de comparación de medias de Tukey (tabla 13) se puede observar que el crecimiento del aislamiento “JUST B21BP1C1” respecto del testigo arrojó valores del 0% para las dosis de 4000 y 2000 ppm no existiendo diferencia estadística significativa entre ambos tratamientos como tampoco respecto de la dosis mayor aplicada al aislamiento “OLIV Z11L3ZP2C3” con un porcentaje de crecimiento de 3,49%. La dosis de 2000 ppm aplicada al aislamiento “OLIV Z11L3ZP2C3”, así como los dos tratamientos correspondientes a la dosis menor de quitosano más cobre de 1000 ppm no difieren entre sí pero presentan diferencia estadística significativa respecto de los testigos.

En las figuras 17 y 18 se puede observar el desarrollo de las colonias de cada aislamiento para todos los tratamientos incluido el testigo.

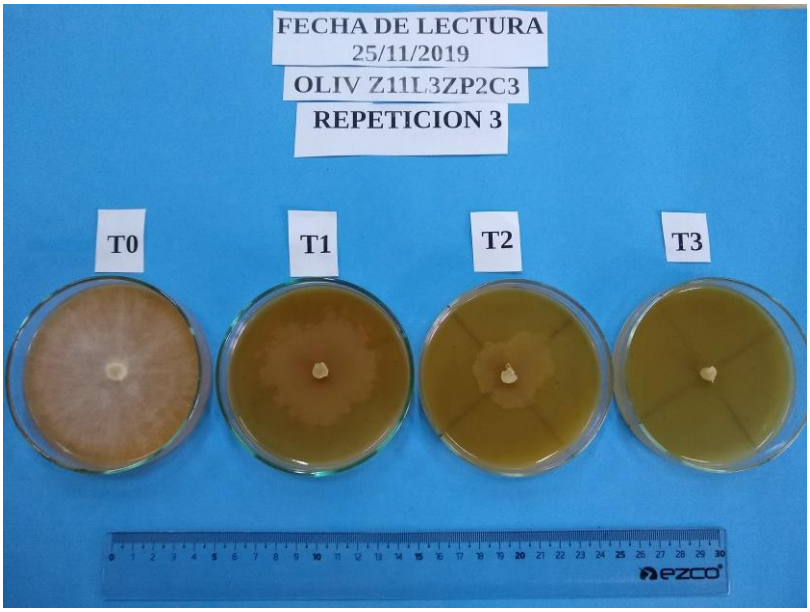

Figura N° 24: Crecimiento del aislamiento “OLIV Z11L3ZP2C3” luego de 7 días de incubación – Repetición 3.

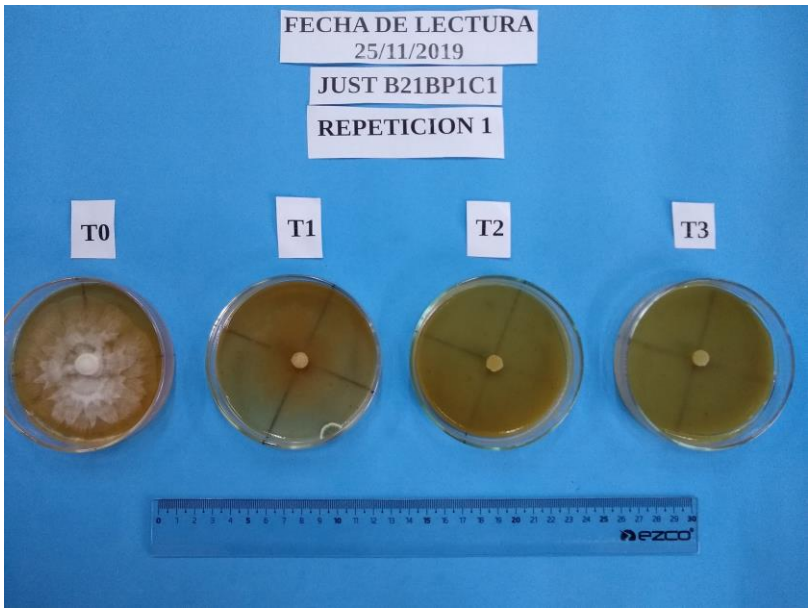

Figura N°25: Crecimiento del aislamiento "JUST B21BP1C1" luego de 7 días de incubación – Repetición 1.

A partir del análisis de sensibilidad según la escala de Shattock, se pudo encontrar diferente respuesta, obteniendo aislamientos "sensibles" e "intermedios" y ningún caso de aislamiento "resistente" (Tabla 14).

Tabla N°14: Análisis de sensibilidad (según la escala de Shattock) comparando dosis y aislamientos de las cepas:

Aislamientos de cepas	Dosis de producto aplicado			
	0 ppm	1000 ppm	2000 ppm	4000 ppm
JUST B19BP1C1	NC	I	I	I
TASIS B13BERP1C1	NC	S	S	S
JUST B20P1C1	NC	I	I	I
AGUSTIN CBERP1	NC	I	S	S
JUST B18P2C1	NC	I	I	I
JUST B16BP2C2	NC	S	S	S
JUST Z18ZP2C1	NC	I	S	S
JUST Z19P1C1	NC	I	S	S
OLIV Z11L3ZP2C3	NC	I	I	S
JUST B21BP1C1	NC	I	S	S

(NC: NO SE CORRESPONDE; I: INTERMEDIO; S: SENSIBLE; R: RESISTENTE.)

DISCUSIÓN:

En el presente trabajo se encontró que la dosis recomendada por el fabricante (según marbete del producto) como fertilizante correspondiente a 0;2% = 2000 ppm de formulado = 40 ppm quitosano = 40 mg de quitosano / litro de caldo, inhibe el crecimiento del patógeno *Phytophthora capsici* en condiciones de laboratorio *in vitro*. Esta inhibición tuvo diferencias entre los aislamientos respecto al porcentaje de crecimiento, pero en todos los casos para la misma concentración se encontró una merma en el diámetro de la colonia, y además se halló una respuesta significativa a la aplicación de dosis mayores, resultando en un mejor control en el crecimiento *in vitro* del patógeno.

Para ninguno de los aislamientos ni dosis utilizadas en este trabajo se obtuvieron resultados que indiquen resistencia a la aplicación del formulado comercial a base de quitosano más cobre en condiciones de laboratorio según la escala de Shattock (1988).

Existen diversos estudios sobre el control de *Phytophthora,* pero con la aplicación de formulados a base de quitosano sin cobre, en tanto es escasa la información de ensayos similares al estudio realizado en este trabajo.

Echevarría *et al.,* (2012) evaluaron el crecimiento micelial *in vitro* y esporulación del hongo *Pyricularia grisea* utilizando una solución de quitosano más cobre (formulado en laboratorio) de 100 mg/l (cobre 0,01%), resultando un efecto inhibitorio del crecimiento 27-30%; no ocurriendo lo mismo en el caso de la esporulación, que fue inhibida al 100 %.

Por su parte, Muñoz *et al*. (2007), en estudios realizados para la inhibición de *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum* sp encontraron que el efecto del quitosano sin

cobre depende tanto de la concentración utilizada como del organismo patógeno tratado, así las concentraciones de 2% y 2,5% (dosis de quitosano sin cobre) determinaron, en ambos hongos, una reducción del crecimiento del micelio significativamente mayor que las dosis más bajas. La mayor diferencia entre crecimientos se presentó con la concentración de 2%. No obstante, no podemos comparar los datos obtenidos por Muñoz con los obtenidos en el presente trabajo, pero sí podemos decir que el quitosano ejerció un efecto en la disminución del crecimiento de hongos fitopatógenos, aunque con especies y formulados diferentes.

Por otro lado, Grijalba *et al.* (2016) utilizando el mismo formulado comercial (quitosano más cobre) utilizado en este trabajo, pero a concentraciones del 1% vía riego (50 cm^3/planta) para el control del hongo *Pythium aphanidermatum* sobre cultivos de tomate, obtuvieron un escaso control en el crecimiento y recomiendan realizar un ensayo de eficacia con dosis mayores y en diferentes momentos de aplicación a efectos de establecer la oportunidad del tratamiento, dado que siendo un producto inductor de resistencia es probable que su aplicación anticipada de tiempo a la planta para desencadenar el proceso de resistencia. Además, recomiendan comprobar la efectividad de otras formulaciones debido a que la misma puede variar de acuerdo con las características fisicoquímicas del producto, tales como el grado de acetilación, el grado de polimerización y el pH de la solución, que influyen sobre las diferentes fases del ciclo de vida del microorganismo.

CONCLUSIÓN

Se evaluó *in vitro* la sensibilidad a quitosano más cobre (formulado comercial) de diferentes aislamientos de *Phytophthora capsici* provenientes de suelos hortícolas cultivados con berenjena y zapallo de tronco.

Se corroboró la diferente sensibilidad de los aislamientos disponibles de *Phytophthora capsici* a las diferentes dosis de quitosano más cobre (formulado comercial) utilizados en este trabajo. En este aspecto, no todos los aislamientos respondieron en igual magnitud, pero todos los tratamientos presentaron disminución del crecimiento del hongo con la dosis de 2000 ppm, con la dosis más baja de 1000 ppm y con la dosis doble de 4000 ppm, registrándose en algunos aislamientos una inhibición completa. Además, se comprueba el efecto inhibitorio en el crecimiento del hongo con la dosis recomendada (como fertilizante según marbete) de 2000 ppm. Se encontraron aislamientos con respuesta “sensible” e “intermedia” y no se registró ningún caso respuesta de tipo “resistente” al quitosano más cobre, siendo mayores los casos con respuesta “sensible” que los casos de respuesta “intermedia”.

CONSIDERACIONES FINALES:

Varios aspectos deben ser tenidos en cuenta en las investigaciones que se realicen abordando las variables utilizadas en el presente trabajo. Por un lado, contemplar la posibilidad de tener una estufa de cultivo más grande para poder realizar todos los tratamientos a la vez y obtener resultados más homogéneos, dado que, y como se menciona en párrafos anteriores, los análisis fueron tomados de a dos aislamientos (cepas) por vez. Por otro lado, en el presente

trabajo se realizó el estudio de un formulado comercial constituido por quitosano más cobre, debiéndose contemplar la posibilidad de realizar este mismo ensayo con el agregado de tratamientos con un formulado a base de quitosano solo y tratamientos a base de cobre, en la forma sulfato de cobre pentahidratado, compuesto similar al que posee el formulado utilizado.

Además, realizar los ensayos de laboratorio *in vivo* o a campo, sobre plantas de cultivos hortícolas que sean afectadas por *Phytophthora capsici* y otras especies fitopatógenas.

No obstante, debido a que se encontraron aislamientos intermedios y teniendo en cuenta la posibilidad que tiene *P. capsici* para desarrollar resistencia, sería conveniente proponer a los productores una combinación de diferentes estrategias y tácticas para un mejor control de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA:

- ✓ Agrios, G. 1997. *"Plant Pathology".* 4° Ed. London: Academic Press, 635 pp.
- ✓ Alexopoulus, C.J.; Mins, C. W. & Blackwell, M. 1996. "*Introductory mycology"*. John Wiley & Sons, Inc. USA.869 pp.
- ✓ Andrade, Diana Alburqueque., Mata, Roberto Gusqui. 2018. *"Eficacia de fungicidas químicos para el control in vitro de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas".*
- ✓ Baldauf, S., Roger, A., Wenk-Siefert, I., Doolittle, W. 2000 "*A kingdom-level phylogeny of eukaryotes based on combined protein data"*. Science, 290 pp. 972-977.

- ✓ Blackwell, E.1943. "*The life history of Phytophthora cactorum"* (Leb & Cohn) Schroet. Trans. British Mycological Society 26:71-103.

- ✓ Cárdenas M., RamírezA., Rodríguez A., Gonzales L. 2004. *"Efecto de los derivados de quitina y su combinación con sulfato de cobre en el comportamiento del crecimiento micelial y esporulación de un aislamiento monospórico del hongo pyricularia grisea".*
- ✓ Dick, M.W.; Wong, P.T.W. y Clark, G. 1984. "*The identity of the oomycete causing kikuyu yellows with a reclassification of the downy mildews".* Botanical Journal of the Linnean Society 89: 171-198.

- ✓ Dick, M.W. 2001. *"Straminipilous Fungi. Systematics of the Peronomycetes including accounts of the marine straminipious protists, the plasmodiophorids and similar organisms".* Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. 670 pp.

- ✓ Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada & C.W. Robledo. InfoStat version 2018. Centro de trasnferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL: http://www.infostat.com.ar

- ✓ Echevarría Hernández, Anayza; Cruz Triana, Ariel; Cárdenas Travieso, Regla M.; Rivero González, Deyanira; Ramírez Arrebato, Miguel A.; Rodríguez Pedroso, Aida T. 2012. "Actividad antifúngica de la quitosana en el crecimiento micelial y esporulación del hongo Pyricularia grisea Sacc".

- ✓ Erwin, D., Ribeiro, O. 1996. *"Phytophthora Diseases Worldwide".* APS Press, the American Phytopathological Society, Minnesota.

- ✓ Fernandez Lozano J. 2012. *"La producción de hortalizas en Argentina". Caracterización del sector y zonas de producción.*

- ✓ Ferratto, J.A.; Mondino, M.C.; Grasso, R.; Ortiz Mackinson, M.; Longo, A.; Carrancio, L.; Firpo, I.T.; Rotondo, R.; Zembo, J.C.; Castro, G.; García, M.; Rodríguez Fazzone, M.; Iribarren, M.J. 2010. "*Buenas Prácticas Agrícolas para la Agricultura Familiar. Cadena de las principales hortalizas de hojas en Argentina".* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. C.A.B.A. 535 pp.

- ✓ Grijalba P., Baron C., Zapata R., y Palmucci H., 2016. *"Control Químico de la Podredumbre Basal de Tomate Causada por Pythiuma phanidermatum".* Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Fitopatología. Revista de la Facultad de Agrnomía, UBA. pp 75.

- ✓ Goodwin, S.B., L.J. Spielman, J.M. Matuszak, S.N. Bergeron, and W.E. Fry. 1992. *"Clonal diversity and genetic differentiation of Phytophthora infestans population in Northern and Central Mexico".* Phytopathology 82:955–961.

- ✓ Hausbeck, M.K. y Lamour, K.H. 2004. "*Phytophthora capsici on vegetable crops: research progress and management challenges"*. Plant Disease 88:1292–1303.

- ✓ Iribarren, María Josefina. 2015. "*Caracterización de Phytophthora capsici como patógeno de especies hortícolas presentes en la zona noreste de la provincia de Buenos Aires".* Tesis de doctorado. Universidad Nacional de la Plata.

- ✓ Jeavons J., 2007. *"El huerto sustentable: como obtener suelos saludables, productos sanos y abundantes".* pp: 1.

- ✓ Ko, W.H. 2007. "*Hormonal regulation of sexual reproduction in Phytophthora"*. Botanical Studies 48:365-375.

- ✓ Lamour, K.H.; Stam, R.; Jupe, J. y Huitema, E. 2012. "*The oomycete broad-host-range pathogen Phytophthora capsici".* Molecular Plant Pathology 13. Pp 329–337.

- ✓ Mansilla Ferro C., 2017. *"Impacto ambiental de la aplicación de plaguicidas en siete modelos socio-productivos hortícolas del Cinturón Verde de Mendoza".* Trabajo Final de Aplicación, Universidad Nacional de Cuyo.
- ✓ Martin, F.N.; Abad, Z.G.; Balci, Y; Ivors, K. 2012. "*Identification and Detection of Phytophthora: Reviewing Our Progress, Identifying Our Needs"*. Plant Disease 96 (8):1080-1103.

- ✓ Mitidieri M.; Corbino, G. 2012 *"Manual de horticultura periurbana".* Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Centro Regional Buenos Aires Norte. Estación Experimental Agropecuaria San Pedro.

- ✓ Muñoz, Z., Garcés, S., Assumpció M. 2007. "*Actividad antifúngica del quitosano sobre Botrytis cinerea y Colletotrichum sp".* Departament de Biologia Vegetal, Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona, Spain.
- ✓ Nieto, R., Orellana, P. 2011. *"Aplicación del quitosano como promotor de floculación para disminuir la carga contaminante".* pp. 1 -10. Trabajo final de aplicación. Universidad Politecnica Salesiana.
- ✓ Ottero Matter, Luciano. 2017. *"Evaluación de la sensibilidad a Metalaxil de Phytophthora capsici y Phytophthora spp. provenientes de suelos hortícolas cultivados con zapallito de tronco y berenjena del noreste bonaerense".* Trabajo Final de Aplicación. Universidad Nacional de Lujan.
- ✓ Pacheco, R., Barbona, E. 2017. *"Manual de uso seguro y responsable de agroquímicos en cultivos frutihorticolas".* Ed. INTA. 2017. pp: 1,2,3.
- ✓ Pillai, C., Paul, W., Sharma, C., 2009. "*Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and ber formation".* Progress in Polymer Science 34. pp: 641–678.
- ✓ Raafat, Dina; Sahl, Hans-Georg. 2009. *"Chitosan and its antimicrobial potencial: a critical literatura survey".* Microbial Biotechnology.
- ✓ Ramírez, M., Rodríguez, A., Alfonso, L., Peniche, C. 2010. *"La quitina y sus derivados, biopolímeros con potencialidades de aplicación agrícola"*. Instituto Nacional de Ciencias Agricolas, Cuba. Rev. Biotecnología Aplicada, pp: 27:262-269-270-276.

- ✓ Reconco, Marcell Crisanto Gómez., Espinoza, Cristian Jafet Núñez. 2019. *“Evaluación de fungicidas para el control de Alternaria spp. en tomate (Solanum lycopersicum L.) bajo condiciones de laboratorio”.*
- ✓ Ristaino, J.B. y Gumpertz, 2000. “*New Frontiers In The study Of Dispersal And Spatial Analysis Of Epidemics Caused By Species In The Genus Phytophthora”*. Annual Review of Phytopathology 38:541-576.
- ✓ Shattock, R. C. 1988. Studies on the inheritance of resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans*. Plant pathology. 37: 4-11.
- ✓ Tun Tucuch, Gerardo Manuel. 2008. *“Efectividad biológica del fungicida oxicloruro de cobre para el control del tizón tardío Phytophthora infestans (mont.) de Bary en papa Solanum tuberosum l.”.*
- ✓ Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., Cháfer, M. 2010. “*Quitosano: una alternativa natural y sostenible para la conservación de frutas y hortalizas”.* Universidad Politécnica de Valencia, España. pp: 01-04.

- ✓ Velásquez, C. 2007. *“Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica”.* Universidad de Los Andes, Venezuela. pp: 01-06.
- ✓ Viglizzo, E. F; Frank, F. C. 2010. *“Erosión del suelo y contaminación del ambiente”.* En: Viglizzo, E. F.; Jobbágy, E. (Ed.). *“Expansión de la frontera agropecuaria en Argentina y su impacto ambiental”.* Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 37.
- ✓ Villaamil, E. C.; Bovi Mitre, G.; Nassetta, M. 2013. “*Situación actual de la contaminación por plaguicidas en Argentina”.* Rev. Internacional de

Contaminación Ambiental. Número especial sobre plaguicidas. Buenos Aires. Argentina. 29: 25-43.

- ✓ Zitter, T.A.; Hopkins, D.L. & Thomas, C.E. 2004. "*Compendium of Cucurbit Diseases*". APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota. 88 pp.

ANEXO 1:

ANOVA COMPLETO DE TODOS LOS AISLAMIENTOS:

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Crecimiento (%)	120	0,99	0,99	12,28

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	182389,47	39	4676,65	228,94	<0,0001
Aislamiento	7830,78	9	870,09	42,59	<0,0001
Dosis	166293,69	3	55431,23	2713,56	<0,0001
Aislamiento*Dosis	8265,01	27	306,11	14,99	<0,0001
Error	1634,20	80	20,43		
Total	184023,67	119			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,00530

Error: 20,4275 gl: 80

Aislamiento	Medias	n	E.E.						
JUST B16BP2C2	28,40	12	1,30	A					
B13BERP1C1	28,46	12	1,30	A					
AGUSTIN CBERP1	29,19	12	1,30	A					
JUST Z19P1C1	31,02	12	1,30	A		B			
JUST Z18ZP2C1	33,82	12	1,30	A		B		C	
JUST B18P2C1	35,27	12	1,30			B		C	
JUST B21BP1C1	38,00	12	1,30					C	D
B19BP1C1	43,09	12	1,30						D
OLIV Z11L3ZP2C3	49,94	12	1,30							E
JUST B20P1C1	50,80	12	1,30							E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,06199

Error: 20,4275 gl: 80

Dosis	Medias	n	E.E.				
4000	5,78	30	0,83	A			
2000	14,84	30	0,83		B		
1000	26,57	30	0,83			C	
0	100,00	30	0,83				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=14,91625

Error: 20,4275 gl: 80

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.									
AGUSTIN CBERP1	4000	0,00	3	2,61	A								
JUST B21BP1C1	2000	0,00	3	2,61	A								
JUST B16BP2C2	4000	0,00	3	2,61	A								
JUST B21BP1C1	4000	0,00	3	2,61	A								
B13BERP1C1	4000	1,20	3	2,61	A								
JUST Z19P1C1	4000	2,29	3	2,61	A								
JUST Z19P1C1	2000	3,07	3	2,61	A								
OLIV Z11L3ZP2C3	4000	3,49	3	2,61	A								
B13BERP1C1	2000	4,22	3	2,61	A	B							
JUST B18P2C1	4000	5,22	3	2,61	A	B							
JUST B16BP2C2	2000	5,43	3	2,61	A	B							
AGUSTIN CBERP1	2000	5,67	3	2,61	A	B							
JUST Z18ZP2C1	4000	5,77	3	2,61	A	B							
JUST B16BP2C2	1000	8,15	3	2,61	A	B	C						
B13BERP1C1	1000	8,43	3	2,61	A	B	C						
JUST Z18ZP2C1	2000	8,56	3	2,61	A	B	C						
AGUSTIN CBERP1	1000	11,08	3	2,61	A	B	C						
B19BP1C1	4000	11,18	3	2,61	A	B	C						
JUST B18P2C1	2000	13,91	3	2,61	A	B	C	D					
JUST Z19P1C1	1000	18,72	3	2,61		B	C	D					
JUST Z18ZP2C1	1000	20,94	3	2,61			C	D	E				
JUST B18P2C1	1000	21,96	3	2,61			C	D	E	F			
B19BP1C1	2000	27,22	3	2,61				D	E	F	G		
JUST B20P1C1	4000	28,64	3	2,61				D	E	F	G		
B19BP1C1	1000	33,97	3	2,61					E	F	G	H	
JUST B20P1C1	2000	36,54	3	2,61						F	G	H	
JUST B20P1C1	1000	38,02	3	2,61							G	H	I
OLIV Z11L3ZP2C3	2000	43,82	3	2,61								H	I
JUST B21BP1C1	1000	52,00	3	2,61									I
OLIV Z11L3ZP2C3	1000	52,46	3	2,61									I
OLIV Z11L3ZP2C3	0	100,00	3	2,61										J
AGUSTIN CBERP1	0	100,00	3	2,61										J
JUST Z19P1C1	0	100,00	3	2,61										J
JUST B20P1C1	0	100,00	3	2,61										J
B19BP1C1	0	100,00	3	2,61										J
JUST B18P2C1	0	100,00	3	2,61										J
JUST Z18ZP2C1	0	100,00	3	2,61										J
B13BERP1C1	0	100,00	3	2,61										J
JUST B21BP1C1	0	100,00	3	2,61										J
JUST B16BP2C2	0	100,00	3	2,61										J

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

1

ANOVA DE TRATAMIENTOS “JUST B19BP1C1” – “TASIS B13BERP1C1”

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Crecimiento (%)	24	0,99	0,99	11,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	35608,93	7	5086,99	300,22	<0,0001
Aislamiento	1283,67	1	1283,67	75,76	<0,0001
Dosis	33688,39	3	11229,46	662,73	<0,0001
Aislamiento*Dosis	636,88	3	212,29	12,53	0,0002
Error	271,11	16	16,94		
Total	35880,04	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,56247

Error: 16,9442 gl: 16

Aislamiento	Medias	n	E.E.		
TASIS B13BERP1C1	28,46	12	1,19	A	
JUST B19BP1C1	43,09	12	1,19		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,79940

Error: 16,9442 gl: 16

Dosis	Medias	n	E.E.			
4000	6,19	6	1,68	A		
2000	15,72	6	1,68		B	
1000	21,20	6	1,68		B	
0	100,00	6	1,68			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=11,63618

Error: 16,9442 gl: 16

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.			
B13BERP1C1	4000	1,20	3	2,38	A		
B13BERP1C1	2000	4,22	3	2,38	A		
B13BERP1C1	1000	8,43	3	2,38	A		
B19BP1C1	4000	11,18	3	2,38	A		
B19BP1C1	2000	27,22	3	2,38		B	
B19BP1C1	1000	33,97	3	2,38		B	
B13BERP1C1	0	100,00	3	2,38			C
B19BP1C1	0	100,00	3	2,38			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

2

ANOVA DE TRATAMIENTOS “AGUSTIN B13BerP1C1” – “JUST B20P1C1”

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Crecimiento (%)	24	1,00	1,00	5,09

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	33377,12	7	4768,16	1172,85	<0,0001
Aislamiento	2994,08	1	2994,08	736,47	<0,0001
Dosis	29367,00	3	9789,00	2407,86	<0,0001
Aislamiento*Dosis	1016,04	3	338,68	83,31	<0,0001

Error	65,05	16	4,07
Total	33442,17	23	

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,74500

Error: 4,0654 gl: 16

Aislamiento	Medias	n	E.E.		
B13BERP1C1	28,46	12	0,58	A	
JUST B20P1C1	50,80	12	0,58		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,33053

Error: 4,0654 gl: 16

Dosis	Medias	n	E.E.			
4000	14,92	6	0,82	A		
2000	20,38	6	0,82		B	
1000	23,23	6	0,82		B	
0	100,00	6	0,82			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,69972

Error: 4,0654 gl: 16

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.					
B13BERP1C1	4000	1,20	3	1,16	A				
B13BERP1C1	2000	4,22	3	1,16	A	B			
B13BERP1C1	1000	8,43	3	1,16		B			
JUST B20P1C1	4000	28,64	3	1,16			C		
JUST B20P1C1	2000	36,54	3	1,16				D	
JUST B20P1C1	1000	38,02	3	1,16				D	
B13BERP1C1	0	100,00	3	1,16					E
JUST B20P1C1	0	100,00	3	1,16					E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

3

ANOVA DE TRATAMIENTOS “JUST B16BP2C2” – “JUST B18P2C1”

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Crecimiento (%)	24	1,00	1,00	7,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	38075,58	7	5439,37	1022,80	<0,0001
Aislamiento	283,73	1	283,73	53,35	<0,0001
Dosis	37640,85	3	12546,95	2359,29	<0,0001
Aislamiento*Dosis	151,00	3	50,33	9,46	0,0008
Error	85,09	16	5,32		
Total	38160,67	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,99581

Error: 5,3181 gl: 16

Aislamiento	Medias	n	E.E.		
JUST B16BP2C2	28,40	12	0,67	A	
JUST B18P2C1	35,27	12	0,67		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,80924

Error: 5,3181 gl: 16

Dosis	Medias	n	E.E.				
4000	2,61	6	0,94	A			
2000	9,67	6	0,94		B		
1000	15,05	6	0,94			C	
0	100,00	6	0,94				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,51896

Error: 5,3181 gl: 16

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.						
JUST B16BP2C2	4000	0,00	3	1,33	A					
JUST B18P2C1	4000	5,22	3	1,33	A	B				
JUST B16BP2C2	2000	5,43	3	1,33	A	B				
JUST B16BP2C2	1000	8,15	3	1,33		B	C			
JUST B18P2C1	2000	13,91	3	1,33			C			
JUST B18P2C1	1000	21,96	3	1,33				D		
JUST B18P2C1	0	100,00	3	1,33						E
JUST B16BP2C2	0	100,00	3	1,33						E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

4

ANOVA DE TRATAMIENTOS “JUST Z18ZP2C1” – “JUST Z19P1C1”

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Crecimiento (%)	24	0,99	0,99	13,57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	37506,59	7	5358,08	276,67	<0,0001
Aislamiento	46,96	1	46,96	2,42	0,1390
Dosis	37435,85	3	12478,62	644,33	<0,0001
Aislamiento*Dosis	23,78	3	7,93	0,41	0,7485
Error	309,87	16	19,37		
Total	37816,46	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,80863

Error: 19,3667 gl: 16

Aislamiento	Medias	n	E.E.	
JUST Z19P1C1	31,02	12	1,27	A
JUST Z18ZP2C1	33,82	12	1,27	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,26922

Error: 19,3667 gl: 16

Dosis	Medias	n	E.E.			
4000	4,03	6	1,80	A		
2000	5,82	6	1,80	A		
1000	19,83	6	1,80		B	
0	100,00	6	1,80			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=12,44022

Error: 19,3667 gl: 16

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.			
JUST Z19P1C1	4000	2,29	3	2,54	A		
JUST Z19P1C1	2000	3,07	3	2,54	A		
JUST Z18ZP2C1	4000	5,77	3	2,54	A		
JUST Z18ZP2C1	2000	8,56	3	2,54	A	B	
JUST Z19P1C1	1000	18,72	3	2,54		B	
JUST Z18ZP2C1	1000	20,94	3	2,54		B	
JUST Z19P1C1	0	100,00	3	2,54			C
JUST Z18ZP2C1	0	100,00	3	2,54			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

5

ANOVA DE TRATAMIENTOS “JUST B21BP1C1” - “OLIV Z11L3ZP2C3”

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Crecimiento (%)	24	0,98	0,96	17,01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	35762,14	7	5108,88	91,33	<0,0001
Aislamiento	855,98	1	855,98	15,30	0,0012
Dosis	32862,82	3	10954,27	195,82	<0,0001
Aislamiento*Dosis	2043,34	3	681,11	12,18	0,0002
Error	895,06	16	55,94		
Total	36657,20	23			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,47301

Error: 55,9412 gl: 16

Aislamiento	Medias	n	E.E.		
JUST B21BP1C1	38,00	12	2,16	A	
OLIV Z11L3ZP2C3	49,94	12	2,16		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=12,35452

Error: 55,9412 gl: 16

Dosis	Medias	n	E.E.		
4000	1,75	6	3,05	A	
2000	21,91	6	3,05		B

1000	52,23	6	3,05		C	
0	100,00	6	3,05			D

Sección 1: Identificación de la Compañía y el Producto

Nombre del Producto	**RaiSan Cu**
Fabricante	Ftalosur SA
Dirección	Ruta 8, Km 51, Oficina 6. Edificio Mirador – Pilar – Buenos Aires.
DISTRIBUIDOR	WayneAgro Arias 1671 4°A (C1429DWA)CABA Argentina. Tel: (54-11) 4703-4254 info@wayneagro.com www.wayneagro.com

Sección 2: Composición / Información de los Ingredientes

Nombre químico No.1	:	Poli-D-glucosamina, Quitosano
Formula química No.1	:	$[C_6H_{10}NO_4(H)_x(C_2H_3O)_{1-x}]_n$ $x \geq 0,6$ $n \geq 3.500$
Nº CAS 1	:	9012-76-4
Nombre químico No.2		Sulfato de cobre pentahidratado
Formula química No.2		$CuSO_4 \cdot 5H_2O$
Nº CAS 2		7758-99-8

Sección 3: Identification de riesgos

Marca en etiqueta	:	Suspensión líquida no inflamable.
Clasificación del riesgo de la sustancia química	:	Nivel 2: Producto que usualmente no ofrece peligro.
a) Riesgo de la salud de las personas		
Efectos sobre una sobre exposición	:	Producto no-volátil que no causa problemas respiratorios.
Inhalación	:	No genera vapores que puedan causar problemas respiratorios o edema pulmonar, a menos que esté expuesto a altas fuente de calor.
Contacto con la piel	:	Causa una ligera irritación a la piel si no es lavado rápidamente. Contacto prolongado o repetido con la piel puede causar quemaduras y puede causar reacciones alérgicas en algunas personas.
Contacto con los ojos	:	Peligroso en caso de contacto con los ojos (irritante).Puede causar quemaduras a los ojos.
Ingestión	:	Este producto es tóxico, produciendo náuseas y vómitos. Causa quemaduras a las membranas mucosa de la boca, esófago y estómago. Puede afectar el metabolismo, el hígado, la sangre, el sistema urinario, el comportamiento y el sistema nervioso y el sistema cardiovascular. Mantener fuera del alcance de niños y personas inexpertas.
Efectos de sobre exposición crónica (largo plazo)	:	No causa problemas respiratorios.
b) Riesgos para el medioambiente	:	No es tóxico para abejas, pájaros o peces. Sin embargo, no deseche el producto ni lave los equipos en fuentes de agua de cualquier tipo.
c) Riesgo especial de la sustancia	:	No aplicable.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=21,14297

Error: 55,9412 gl: 16

Aislamiento	Dosis	Medias	n	E.E.			
JUST B21BP1C1	4000	0,00	3	4,32	A		
JUST B21BP1C1	2000	0,00	3	4,32	A		
OLIV Z11L3ZP2C3	4000	3,49	3	4,32	A		
OLIV Z11L3ZP2C3	2000	43,82	3	4,32		B	
JUST B21BP1C1	1000	52,00	3	4,32		B	
OLIV Z11L3ZP2C3	1000	52,46	3	4,32		B	
OLIV Z11L3ZP2C3	0	100,00	3	4,32			C
JUST B21BP1C1	0	100,00	3	4,32			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

HOJA DE SEGURIDAD DEL FORMULADO COMERCIAL “RAISAN COBRE”:

Sección 4: Medidas de Primeros Auxilios		
En caso de contacto accidental con producto	:	Quítese la ropa contaminada y enjuáguese la piel inmediatamente con abundante agua, limpiando bien los pliegues de la piel.
Si es inhalado	:	No aplicable.
Contacto con la piel	:	Enjuague la piel contaminada con agua y jabón, limpiando bien los pliegues de la piel. Si la irritación persiste conseguir cuidado médico.
Contacto con los ojos	:	Enjuague con abundante agua durante 15 minutos.
Si es ingerido	:	Nunca dé a beber o comer a una persona inconciente. Dé a beber Al menos 2 tasas de agua o leche si es posible. Pida ayuda médica.
Nota para el Médico tratante	:	Induzca vomito dirigido por personal médico. Dé grandes cantidades de agua en los pacientes que han ingerido el producto. Mantener libres las vías respiratorias. Nunca dé a beber o comer a una persona inconciente.
Sección 5: Medidas para combatir incendios		
Agentes de extinción	:	Al ocurrir pequeños fuegos aplique anhídrido carbónico, polvo químico seco, arena seca o espuma resistente al alcohol. Al ocurrir grandes fuegos usar agua o espuma resistente al alcohol. Mover los recipientes del área del fuego, si se puede hacer sin riesgo. Haga un dique de contención para el agua que controle el fuego descarte más tarde, no esparza el material.
Procedimientos especiales para combatir el fuego	:	No aplicable.
Equipo de protección personal para el combate del fuego	:	Bomberos deberían estar equipados con aparatos con tanque de oxígeno.
Sección 6: Medidas a tomar por derrames accidentales		
Medidas de emergencia a tomar si hay derrame de material	:	Evitar hacer mezclas innecesarias por medio de equipos de limpieza.
Equipo de protección personal para atacar la emergencia	:	Use ropa protectora.
Precauciones a tomar para evitar daño al ambiente	:	No reacciona con la atmósfera si el producto se mantiene líquido
Métodos de limpieza	:	Aléjelo de todo material derramado y elimínelo.
Método de eliminación de desechos	:	Elimine este producto como desecho de acuerdo a las regulaciones locales.
Sección 7: Manipulación y Almacenamiento		
Recomendaciones técnicas	:	El producto puede aplicarse a cualquier temperatura del medio-ambiente.
Precauciones a tomar	:	No tiene propiedades corrosivas.
Recomendaciones sobre la manipulación segura	:	No coma ni beba mientras el producto es manipulado, cámbiese de ropa una vez terminado el día de trabajo, y lávese con abundante agua y jabón.
Condiciones de almacenamiento	:	No exponer el producto a temperaturas altas para evitar el deterioro Del material orgánico. Almacene en un lugar fresco y seco.
Recomendaciones sobre manipulación segura, especifica	:	Se recomiendan aquellos que permiten mantener el producto aislado del medioambiente y la humedad. Evitar materiales metálicos, pues se pueden oxidar.

Sección 8: Control de exposición / Protección personal		
Medidas para reducir la posibilidad de exposición	:	No aplicable.
Protección respiratoria	:	No aplicable.
Guantes de protección	:	Use guantes de goma o plásticos.
Protección a la vista	:	Use guantes protectores para evitar salpicarse con el producto.
Otros equipos de protección	:	Use ropa protectora adecuada para la emergencia.
Ventilación	:	Se requiere condiciones especiales de ventilación.

Sección 9: Propiedades fisicoquímicas		
Estado físico	:	Suspensión líquida
Apariencia y color	:	No transparente, verde turquesa opaco.
Concentración de Quitosano	:	1,7 % p/p 2.0 % p/v
Concentración como:		
Sulfato de cobre pentahidratado		20.0 % p/p 25.0 % p/v
Cobre (elemento)		5.0 % p/p 6.2 % p/v
PH		3 - 4
Punto de Inflamación	:	No aplicable.
Temperatura de descomposición	:	Cuando es calentado hasta su descomposición no emite vapores
	:	tóxicos.
Temperatura de Auto ignición		No aplicable.
Peligro de fuego o explosión	:	No presenta peligros de fuego o explosión.
Presión de vapor a 25° C.	:	No aplicable.
Densidad a 25° C	:	1,25 g/mL
Solubilidad en agua y otros solventes	:	Parcialmente soluble en agua a pH bajo 6,0, e insoluble en la
	:	mayoría de los solventes orgánicos

Sección 10: Estabilidad y reactividad		
Estabilidad	:	No reacciona con el aire o el agua, pero es altamente corrosivo de metales.
Condiciones que se deben evitar	:	Evitar agentes oxidantes. Cuando aplique Biorend Cu asegúrese de que el agua tenga un pH bajo 6,5 para evitar la precipitación de los ingredientes activos. Si el agua tiene un pH superior a 6,5 deberá agregar un agente tamponante del pH antes de agregar el Biorend Cu para asegurarse que los ingredientes activos no precipitarán.
Incompatibilidad (materiales que se deben evitar)	:	Materiales capaces de ser corroídos por el Sulfato de Cobre.
Productos peligrosos de la descomposición	:	Incompatible con materiales oxidables.
Polimerización peligrosa	:	No ocurre.

Sección 11 : Información toxicológica		
Toxicidad a corto plazo	:	No tóxico.
Toxicidad a largo plazo	:	Por lo general, bajos niveles de exposición crónica son admitidos como seguros.
Efectos Locales o sistémicos	:	Ningún efecto.
Sensibilización alergénica	:	Un contacto repetitivo con la piel puede producir dermatitis.

Sección 12: Información ecológica		
Inestabilidad	:	El producto no reacciona con el aire.
Persistencia / Degradabilidad	:	Es fácilmente biodegradable en el medioambiente.
Bio-acumulación	:	Existe una incorporación de Sulfato de Cobre en las plantas como agente bioestimulante, por otro lado, el quitosano no es bioacumulado en las plantas.
Efectos sobre el medioambiente	:	No tiene efectos adversos sobre el medioambiente. Este producto es inofensivo en dosis adecuadas, sin embargo, como es un fertilizante, se recomienda evitar que tome contacto con fuentes de agua y el suelo.
Sección 13 : Consideraciones para su eliminación		
Métodos de eliminación del producto como desecho	:	Aplique según las direcciones de la etiqueta o entierre de acuerdo a facilidades autorizadas. No descargue en canales o sistemas de alcantarillado. Consulte al estado federal o a las autoridades de eliminación local por los procedimientos alternativos aceptado.
Eliminación de envases/embalajes contaminados	:	Enjuague tres veces el recipiente (o equivalente). Entonces disponga para reciclar o reacondicionar, o perforar y eliminar a un. basural, o para la incineración si está permitió por el estado y las autoridades locales Si es quemado, quédese fuera de humo.
Sección 14 : Información para el transporte		
Distintivo aplicable NCh 2190	:	No aplicable como material peligroso.
Nº NU.	:	No es considerado material peligroso para el transporte según NCh 382 Of.98
Información del Departamento de Transporte (D.T.) de EE. UU.:		
Nombre de la embarcación apropiada según D.T. (49CFR172.101-102)	:	Ninguno
Clasificación de peligro del D.T. (CFR 172.101-102):	:	Ninguno
Sustancia peligrosa (49CFR CERCLA List)	:	Ninguno
Etiquetas requeridas por el D.T. (49CFR172.101-102)	:	Ninguno
Letreros requeridos por el D.T. (CFR172.504)	:	Ninguno
Veneno constituyente (49CFR172.203(K))	:	No aplicable.
Sección 15 : Información sobre reglamentación		
Normas internacionales aplicables	:	No aplicable.
Normas nacionales aplicables	:	No aplicable.
Marcas en etiqueta	:	Cuidado.
Sección 16 : Otra Información		
Los datos consignados en esta hoja Informativa se obtuvieron de fuentes fiables. Las opiniones expresadas en este formulario son de profesionales calificados. La información de esta hoja es lo conocido hasta el momento sobre esta materia. Considerando que el uso de esta información y de los productos está fuera del control del proveedor, la empresa no asume responsabilidad alguna por este concepto. Determinar las condiciones de uso seguro del producto es la obligación del usuario.		

INFORMACIÓN DEL EQUIPAMIENTO UTILIZADO EN EL LABORATORIO

- Flujo laminar

Nombre comercial: “Aura Mini”.

Especificaciones: Flujo descendente. Filtro especial H14 y filtro de escape Filtrete® (o prefiltros). Barrera de aire exterior: el aire se aspira a través del prefiltro Filtrete®, se mezcla con el aire recirculante entrante y luego se filtra a

través del filtro principal HEPA hacia el área de trabajo. El 30% del aire se expulsa a través de la abertura frontal y el 70% se recircula.

- Estufa de cultivo

Nombre comercial: Estufa "Fac" De Cultivo

Especificaciones: 40 cm x 60 cm x 40 cm Digital. Puerta visor de vidrio con filtro de luz solar. Gabinete exterior: acero esmaltado al horno. Gabinete interior: chapa de acero inoxidable, con aislación en lana de vidrio de alta densidad. Calefacción: 4 resistencias envainadas en plástico a convección natural. Rango de trabajo: regulable desde ambiente hasta 60 ºC precisión +/- 0.5ºC. Medidas internas 40 x 60 x 40 cm. Alimentación 220V 50Hz.