



510-094/
635.642
I 42
1998
BIBLIOTECA CORFO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACION LA PLATINA

**PRUEBA DE VARIETADES CON RESISTENCIA Y MODELO DE
PREDICCIÓN PARA ENFERMEDADES FUNGOSAS EN EL
TOMATE INDUSTRIAL**

**PROYECTO IANSAFRUT - FONTEC
INFORME FINAL**

Responsable Ejecución por INIA

ALICIA BRUNA V.
Ing. Agrónomo M.Sc.
Fitopatología

635.642
I 42
1998

Noviembre 1998
SANTIAGO, CHILE

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACION LA PLATINA

**PRUEBA DE VARIEDADES CON RESISTENCIA Y MODELO DE
PREDICCIÓN PARA ENFERMEDADES FUNGOSAS EN EL
TOMATE INDUSTRIAL**

**PROYECTO IANSAFRUT - FONTEC
INFORME FINAL**

R: 4008

Responsable Ejecución por INIA

ALICIA BRUNA V.
Ing. Agrónomo M.Sc.
Fitopatóloga

Noviembre 1998
SANTIAGO, CHILE

INDICE

Introducción	1
Actividades realizadas durante cada etapa	
Etapa 1: Implementación del TOM - CAST	2
Etapas 3 y 5: Toma de muestras y análisis fitopatológico	3
Etapa 4: Entrenamiento personal técnico	10
Etapas 2 y 6: Calibración de equipos pronosticadores	10
Ensayos de Control	11
Etapa 7: Análisis de residuos de fungicidas	24
Etapa 8: Evaluación de híbridos resistentes a hongos	25
Resultados	48
Conclusiones	50
Bibliografía	51

1. INTRODUCCION

Este constituye el Informe Final del Proyecto "Prueba de Variedades con Resistencia y Modelo de Predicción para Enfermedades Fungosas en el Tomate Industrial", de acuerdo al Convenio FONTEC-Empresas IANSA S.A.-INIA CRI La Platina.

El Proyecto ha sido planteado en el contexto del uso de un modelo de pronóstico, basado en datos de temperatura y humedad foliar, con el cual predecir el momento oportuno de aplicación de fungicidas para el control de enfermedades causadas por *Alternaria solani* y *Alternaria alternata* en tomate industrial. De este modo, se postula cambiar el calendario fijo de 8 aplicaciones de fungicidas durante la temporada a uno variable, sujeto a la información de valores críticos de la enfermedad, dada por microprocesadores denominados TOM-CAST (TOMato disease foreCASTer). Se estima que es posible disminuir de 2 a 4 aplicaciones de fungicidas, dependiendo de la zona y fecha de plantación, lo que trae como beneficios una reducción de costos de producción y una disminución de la contaminación ambiental y humana.

Al mismo tiempo, se está probando híbridos con resistencia a *Alternaria alternata*, lo que ayudará asimismo a disminuir la aplicación de pesticidas en el tomate industrial.

De acuerdo a estos antecedentes, el objetivo general del Proyecto fue :

- Establecer un método de pronóstico en base al instrumento de predicción computarizado TOM-CAST y evaluar la resistencia de cultivares de tomate a las enfermedades causadas por *Alternaria solani* y *Alternaria alternata*.

El Proyecto desarrollado en Curicó y Talca, se inició en Noviembre de 1996 con la instalación de 2 microprocesadores TOM-CAST, por temporada, y concluyó en noviembre de 1998, obteniéndose los resultados que a continuación se detallan.

Las actividades realizadas correspondieron a las siguientes etapas, de acuerdo a un Plan de Trabajo estipulado:

1. Implementación del TOM-CAST en Curicó y Talca
2. Calibración del TOM-CAST para *Alternaria solani* y *Alternaria alternata*
3. Toma de muestras de tomate en la temporada
4. Entrenamiento personal técnico
5. Análisis de las muestras de tomate en laboratorio
6. Ensayos de control químico
7. Determinación de residuos de fungicidas en frutos de tomate
8. Evaluación de híbridos de tomate resistentes a hongos

2. ACTIVIDADES REALIZADAS DURANTE CADA ETAPA

ETAPA 1.

Implementación del TOM-CAST en Curicó y Talca

Establecimiento de los instrumentos de predicción y su puesta en marcha

Los dos instrumentos de predicción TOM-CAST, pertenecientes a la empresa IANSAFRUT, se colocaron en las zonas de Curicó y Talca, en predios seleccionados por los técnicos de IANSAFRUT. La instalación se realizó en el mes de noviembre en ambas temporadas.

Los agricultores seleccionados para evaluar el funcionamiento del equipo fueron:

Cuadro 1. Agricultor, zona y fecha de instalación del TOM-CAST.

Agricultor	Zona	Fecha instalación
Elio Spinello	Curicó	7 Noviembre 1996
Miguel Donoso	Talca	13 Noviembre 1996
Rodrigo Sirvent	Curicó	2 Noviembre 1997
Alvaro Donoso	Talca	7 Noviembre 1997

Los instrumentos de predicción TOM-CAST registran y almacenan los valores de temperatura y humedad foliar cada hora, mediante sensores que se colocan entre las hileras del cultivo de tomate, a una altura aproximada de 30 cm sobre el nivel del suelo. En función de las temperaturas promedio producidas durante las horas en que el follaje del tomate está húmedo, se calcula un Valor de Severidad de la Enfermedad (VSE), diariamente.

Dado que en la segunda temporada uno de los equipos TOM-CAST, ubicado en la zona de Curicó, tuvo fallas de funcionamiento y no fue posible repararlo, se procedió a colocar un equipo pronosticador agrometeorológico con un sistema Aequalis, versión 1.3, el cual incluye un computador de tipo control industrial en su unidad central y varios sensores externos como temperatura, humedad foliar, humedad relativa, temperatura de suelo, estado hídrico del suelo y sensor de evaporación de bandeja. En este caso también se trabajó con Valores de Severidad de la Enfermedad (VSE), al igual que con el TOM-CAST. Estos valores se calculan diariamente en función de las temperaturas promedio producidas durante las horas en que el follaje del tomate está húmedo.

A partir de la fecha de instalación de los equipos pronosticadores, se procedió a acumular los VSE para cada una de las localidades.

ETAPAS 3 Y 5

Toma de muestras en la temporada y análisis fitopatológico en laboratorio.

Actividad

Descripción de sintomatología, época de aparición y toma de muestras en predios de la VII Región e identificación de los agentes causales de enfermedades en tomate industrial.

Se procedió a tomar muestras de plantas al azar, cada 15 días, en los predios seleccionados durante las dos temporadas de trabajo, correspondiente a los agricultores que se detallan a continuación.

Cuadro 2. Agricultor, zona y temporada.

Agricultor	Zona	Temporada
Elio Spinello	Curicó	1996 - 97
Francisco Ureta	Talca	1996 - 97
Miguel Donoso	Talca	1996 - 97
Rodrigo Sirvent	Curicó	1997 - 98
Alvaro Donoso	Talca	1997 - 98
Fernando Gutiérrez	Talca	1997 - 98

En los predios se dejó alrededor de 1.000 m² de cultivo de tomate sin aplicación de fungicidas durante toda la temporada, con el fin de monitorear la presencia de agentes causales de enfermedades en forma natural.

En cada fecha de muestreo se tomaron 10 muestras al azar, las que se colocaron en cajas portátiles con hielo seco y se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología del CRI La Platina para su análisis fitopatológico. Además, se tomaron muestras dirigidas cuando se observó sintomatologías de enfermedades.

Se identificó la presencia de todos los hongos patógenos encontrados, mediante claves taxonómicas y especificaciones de varios autores. Además, se identificó las virosis presentes en el cultivo de tomate mediante el uso de la Prueba Inmuno-específica ELISA.

Los hongos identificados y las claves empleadas fueron los siguientes :

Alternaria alternata y *A. solani* : según Rotem, J. (1994)

Fusarium oxysporum : según Nelson, P.E., Toussoun, T.A. & Marasas, W (1983)

Verticillium dahliae : según Hawksworth, D.L. & Talboys, P.W. (1970)

Stemphylium botryosum : según Booth, C. & Pirozynski, K. (1967)

Phytophthora spp. : según Newhook, F.J., Waterhouse, G.M. & Stamps, D.J.(1978).

Se caracterizó la sintomatología causada por cada uno de los patógenos y se determinó la Incidencia de la enfermedad, dada por la siguiente fórmula :

$$\text{INCIDENCIA} = \frac{\text{N}^\circ \text{ plantas enfermas}}{\text{N}^\circ \text{ total plantas observadas}} \times 100$$

Sintomatología

- 1.- *Alternaria alternata* y *A. solani* : Lesiones café irregulares en las hojas y lesiones café oscuras deprimidas en el fruto maduro (*A. alternata*) y lesiones café circulares concéntricas en hojas (*A. solani*).
- 2.- *Fusarium oxysporum* : Marchitez, amarillez de hojas basales, daño de cuello y raíces y daño vascular a lo largo del tallo.
- 3.- *Verticillium dahliae* : Lesiones necróticas de color café, unilaterales o en el ápice de los folíolos; en ataques severos hay marchitez y muerte de las plantas.
- 4.- *Stemphylium botryosum* : Lesiones café, necróticas e irregulares en los folíolos.
- 5.- *Phytophthora nicotiana* : Lesiones de color café oliváceo en frutos verdes en contacto con el suelo, que posteriormente se pudren.

Los estudios realizados en laboratorio durante esta temporada han confirmado que ambos tipos de *Alternaria* están asociadas en los tejidos vegetales, la mayor parte de las veces, sin embargo, la mayor cantidad de inóculo corresponde a

Alternaria alternata, la que predomina durante la temporada de cultivo, y especialmente hacia la época de cosecha.

A continuación se presentan los resultados de un agricultor, representativo por temporada, de los análisis de las muestras de tomate para cada una de las fechas de muestreo con el porcentaje de incidencia.

Cuadro 3. Análisis de muestras de tomate. Temporada 1996/97.
Productor : Francisco Ureta, Talca.

Fecha	* DDT	% Alternaria	% Fusarium	% Verticillium	% Stemphylium	% Phytophthora
18/11	19	10	20	0	0	0
28/11	29	30	0	0	0	0
11/12	42	60	50	0	0	20
26/12	57	90	30	50	0	0
09/01	71	80	0	20	50	0
24/01	86	80	10	40	50	0
06/02	99	80	0	0	20	0

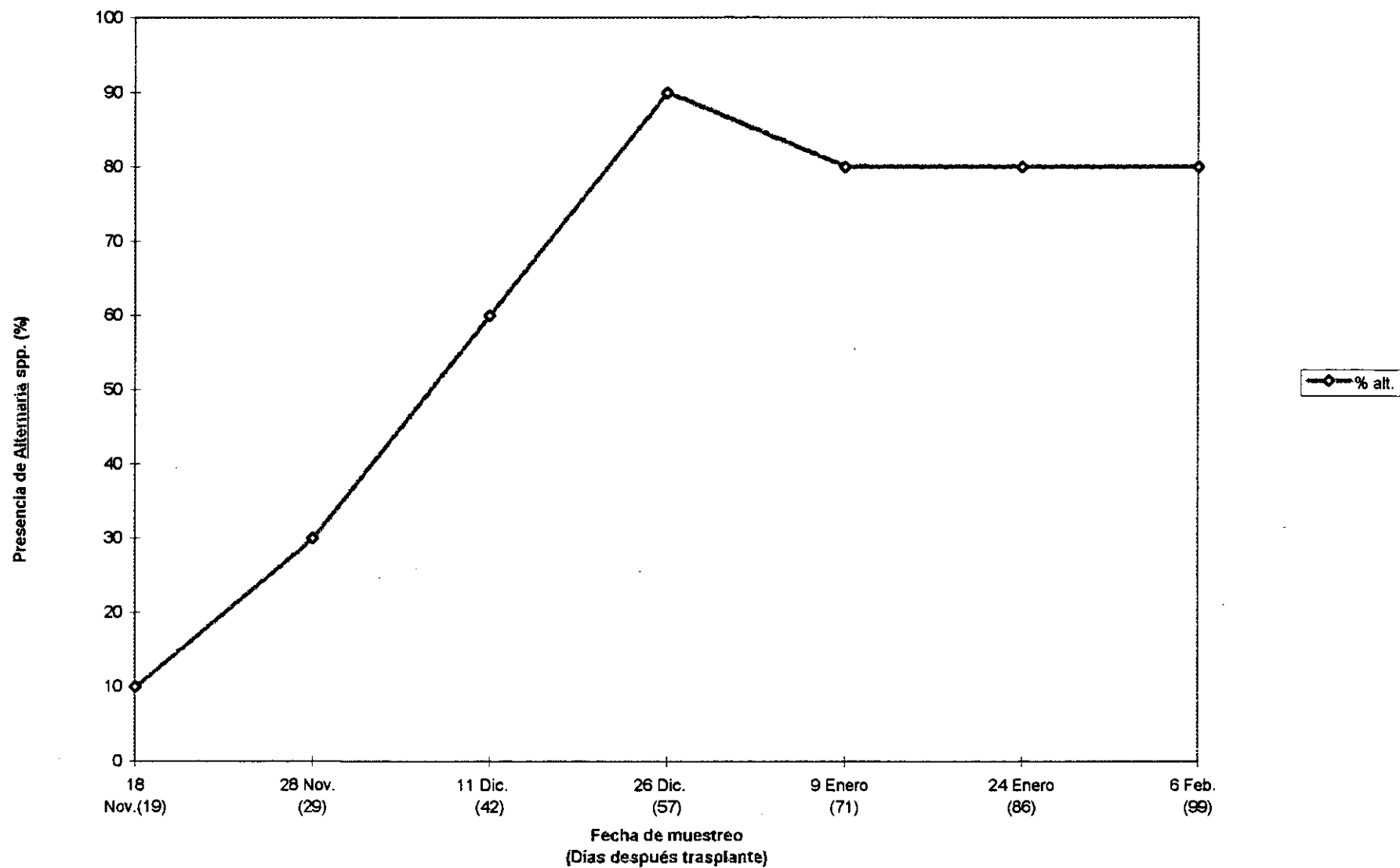
* = Días después del trasplante

En el caso de *Alternaria* spp. en las tres primeras fechas de muestreo no existió sintomatología de la enfermedad en las plantas, es decir, se trataba de inóculo latente. Posteriormente las muestras presentaron la sintomatología típica de tizón temprano.

En todas las demás muestras en que se aisló *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora* spp. y *Stemphylium botryosum*, las plantas mostraban la sintomatología típica descrita anteriormente.

Figura 1

Presencia de Alternaria solani y A. alternata en cultivos de tomate
Productor : F. Ureta, San Clemente, Talca 1996 - 97



Cuadro 4. Análisis de muestras de tomate. Temporada 1997/98.
 Productor : Alvaro Donoso, Talca

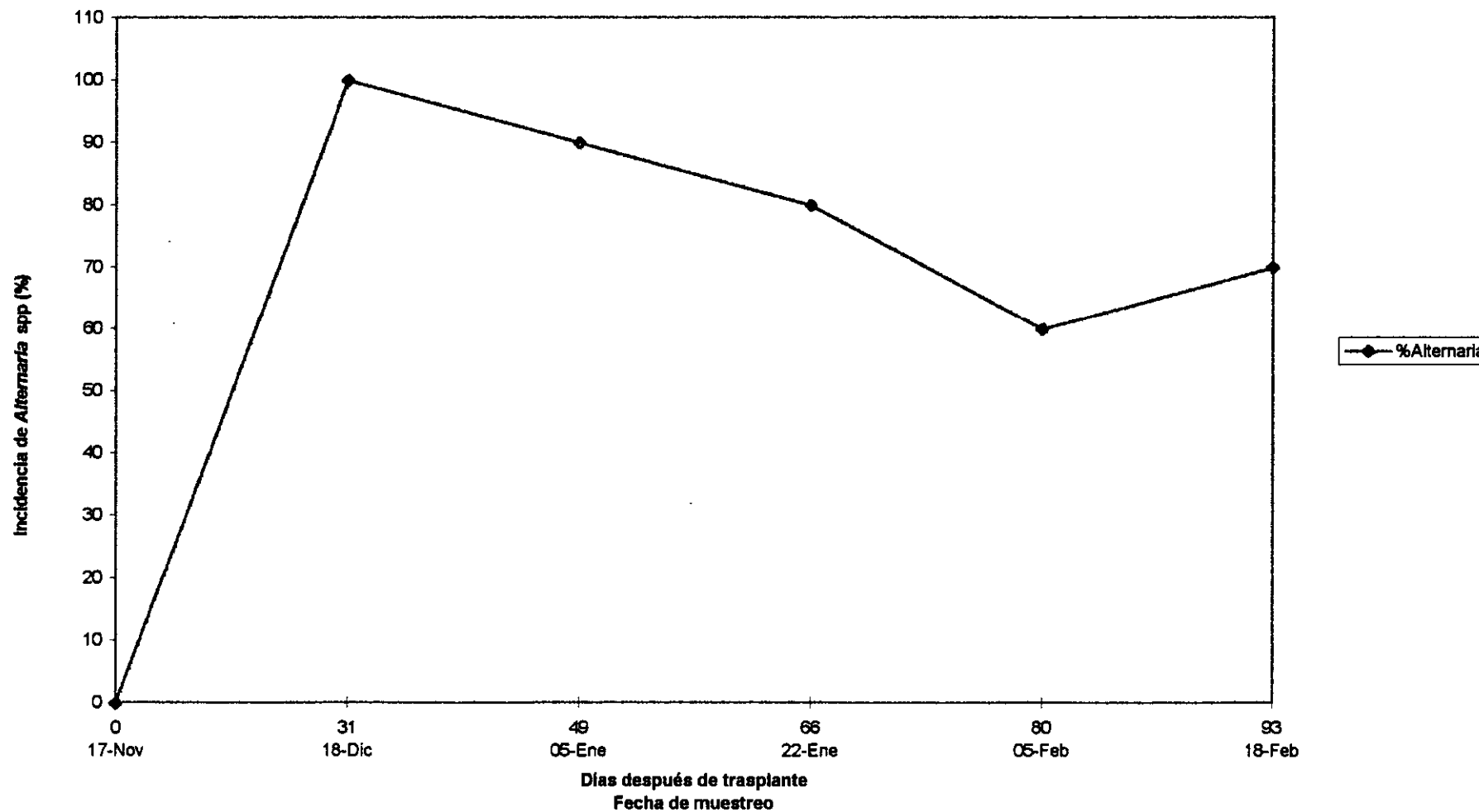
Fecha	* DDT	% Alternaria	% Fusarium	% Verticillium	% Stemphylium	% Phytophthora	% ** Otros
17/11	0	0	0	0	0	0	0
18/12	31	100	40	0	10	0	30
05/01	49	90	10	0	0	0	10
22/01	66	80	0	0	10	0	0
05/02	80	60	20	40	60	20	20
18/02	93	70	0	0	20	0	0

* = Días después del trasplante

** = Otros corresponden a hongos del género *Curvularia*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Dactylaria* y *Ulocladium*.

Figura 2

Monitoreo de *Alternaria alternata* y *A. solani* en tomates sin aplicación de fungicidas. Temporada 1997/98
Productor : Alvaro Donoso. Talca



ETAPA 4

Entrenamiento personal técnico

Actividad

Capacitación en toma de muestras y de datos de terreno

Durante las dos temporadas se realizó capacitación de personal técnico de IANSA, en las zonas de Curicó y Talca, a cargo de la Sra. Alicia Bruna, especialista en Fitopatología del CRI - La Platina. El entrenamiento consistió en reconocimiento de los síntomas característicos producidos por *Alternaria alternata* y *A. solani* en hojas y frutos, toma de muestras en terreno, evaluación de daños a la cosecha y aplicación adecuada de los fungicidas para el control químico, especialmente en lo referente al volumen de agua a asperjar, de acuerdo al estado fenológico del cultivo a través de la temporada, para lograr un adecuado cubrimiento del follaje.

ETAPAS 2 Y 6

Calibración de los equipos pronosticadores para *Alternaria* spp. y ensayos de control químico.

Actividades

Claves de evaluación de los hongos y determinación de los valores de severidad de la enfermedad (VSE) para los diferentes tratamientos fungicidas

Durante toda la temporada de cultivo, desde trasplante a cosecha de los tomates se tomaron notas de evaluación de la enfermedad causada por *Alternaria solani* y *A. alternata* en cada uno de los tratamientos de control químico, cada 15 días. Se cuantificó la **Incidencia** de la enfermedad, dada por el número de plantas con síntomas de la enfermedad en el total de plantas observadas, expresado en porcentaje y la **Severidad** de la enfermedad, correspondiente al área de tejido enfermo en relación al área total.

Incidencia	=	$\frac{\text{N}^\circ \text{ plantas enfermas}}{\text{N}^\circ \text{ total de plantas observadas}} \times 100$
Severidad	=	$\frac{\text{Area tejido enfermo}}{\text{Area total}} \times 100$

La escala de notas empleada para evaluar la severidad fue la siguiente :

- 0 = sin síntomas
- 1 = de 1-25% hoja afectada
- 2 = de 26-50% hoja afectada
- 3 = de 51-75% hoja afectada
- 4 = de 76-100% hoja afectada

Se realizaron ensayos de control en los seis predios de los productores individualizados anteriormente. Se eligieron parcelas de 3 hileras de 9 m de largo cada una, totalizando 1.125 m² por ensayo y por productor.

En la primera temporada de desarrollo del Proyecto, correspondiente al período 1996-97, los tratamientos seleccionados de acuerdo al TOM-CAST fueron cada 7 VSE, cada 11 VSE y cada 15 VSE (Valores de Severidad de la Enfermedad). Los resultados obtenidos permitieron ajustar estos valores para la segunda temporada, seleccionando los tratamientos cada 11 VSE, cada 15 VSE y cada 20 VSE, luego de una aplicación inicial a los 25 VSE en todos los casos. Los fungicidas a aplicar fueron Mancozeb, en dosis de 2 kg/há, Bravo 825 WG (clorotalonil) en dosis de 1,2 kg/ha y Score (difenoconazole) en dosis de 500 cc/ha. Esto se comparó con el programa de 8 aplicaciones a calendario fijo dado por IANSAFRUT y un tratamiento testigo sin aplicación.

ENSAYO DE CONTROL

I. TRATAMIENTO PRIMERA TEMPORADA

1. Calendario fijo
2. Cada 7 VSE con Mancozeb (mancozeb)
3. Cada 7VSE con Bravo (clorotalonil)
4. Cada 11 VSE con Mancozeb (mancozeb)
5. Cada 11 VSE con Bravo (clorotalonil)

6. Cada 15 VSE con Mancozeb (mancozeb)
7. Cada 15 VSE con Bravo (clorotalonil)
8. Testigo sin aplicación

II. TRATAMIENTOS SEGUNDA TEMPORADA

1. Calendario fijo
2. Aplicación inicial 25 VSE, luego c/11 VSE con Mancozeb (Mancozeb)
3. Aplicación inicial 25 VSE, luego c/11 VSE con Bravo (Clorotalonil)
4. Aplicación inicial 25 VSE, luego c/15 VSE con Mancozeb (Mancozeb)
5. Aplicación inicial 25 VSE, luego c/15 VSE con Bravo (Clorotalonil)
6. Aplicación inicial 25 VSE, luego c/15 VSE con Score (Difenoconazole)
7. Aplicación inicial 25 VSE, luego c/20 VSE con Mancozeb (Mancozeb)
8. Aplicación inicial 25 VSE, luego c/20 VSE con Bravo (Clorotalonil)
9. Testigo sin aplicación

Durante la primera temporada, en los tres productores seleccionados para el ensayo, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en relación a la incidencia de la enfermedad, es decir, todos variaron entre nota 0 y 1 indicando que hubo un nivel bajo de infección.

Los resultados que se muestran a continuación se obtuvieron en el predio del agricultor Francisco Ureta de Talca, correspondiendo a los niveles de infección más altos de *Alternaria* spp. durante el período 1996-97

Cuadro 5. Severidad de la enfermedad determinada para el tratamiento N° 8
Productor: Francisco Ureta, Talca.

Fechas	(DDT)	Severidad
20/11	20	0
30/11	30	0
10/12	40	0
20/12	50	0
30/12	60	0
10/01	70	0,5
20/01	80	1
30/01	90	1
10/02	100	1

Figura 3

Progreso de la enfermedad en tratamiento sin aplicación de fungicida (Trat. 8)
Productor : Francisco Ureta, Talca

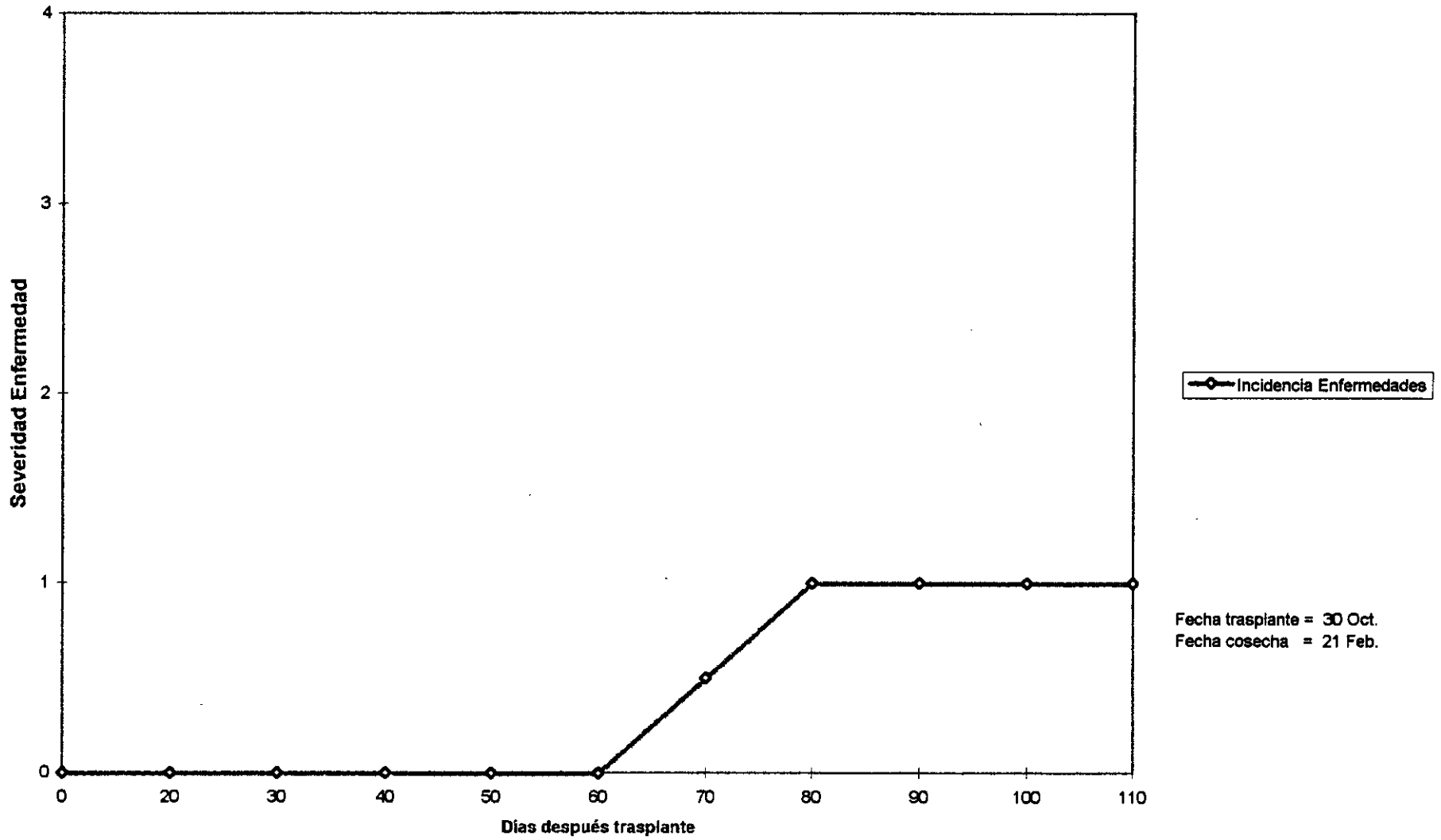
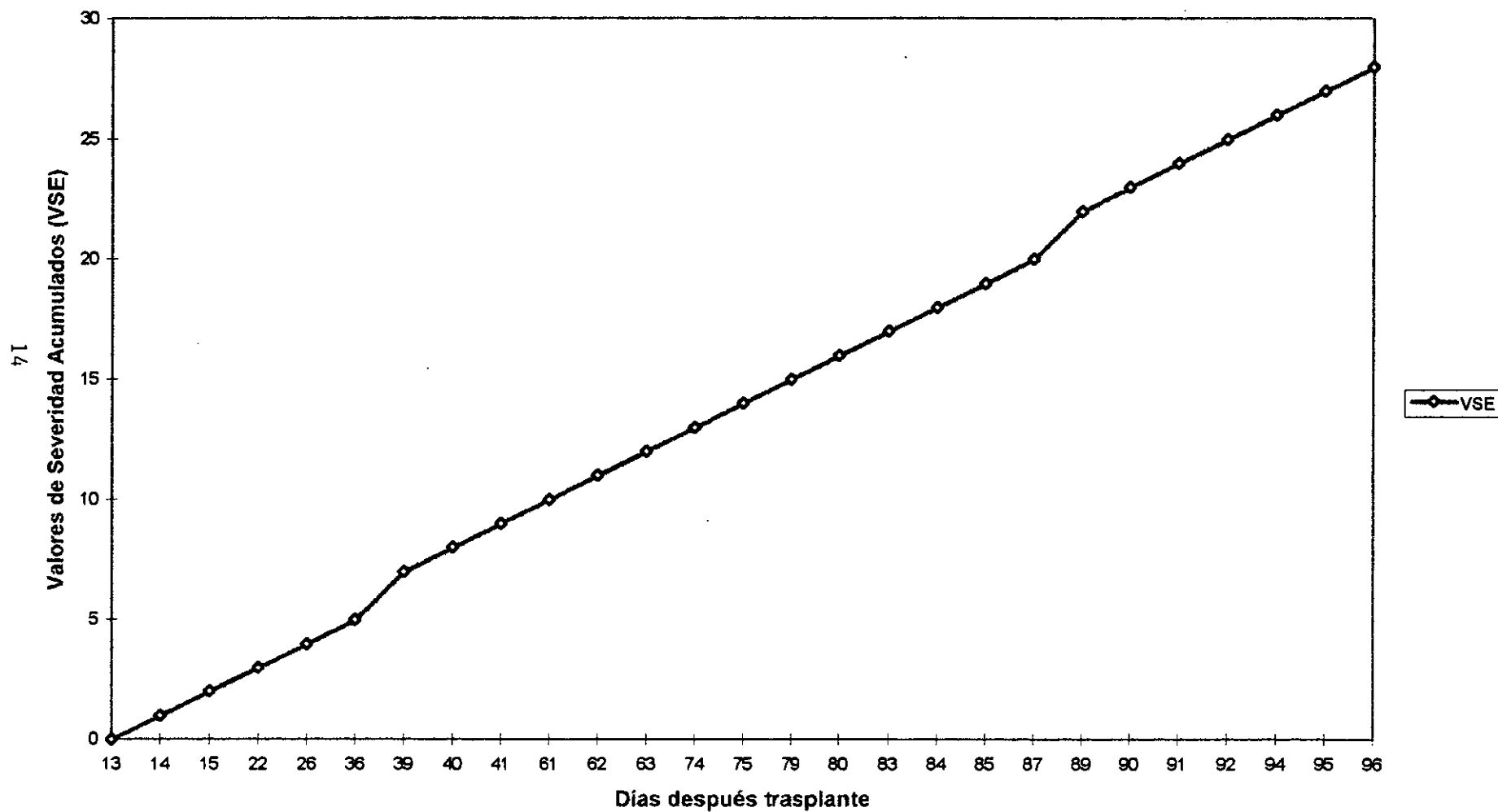


Figura 4

Acumulación de Valores de Severidad de la Enfermedad (VSE) durante la temporada de cultivo.
Productor F. Ureta, Talca



El primer año, se registró la información del tratamiento N° 8 (testigo) en relación a la severidad de la enfermedad en el cultivo, manifestándose un nivel bajo durante esa temporada (0 - 1).

A partir de la experiencia recogida durante ese período, en la segunda temporada se registraron los niveles de incidencia y severidad de la enfermedad para todos los tratamientos correspondientes al ensayo.

Cuadro 6. Fechas aplicación de tratamientos fungicidas
 Productor : Francisco Ureta, Talca 1996/97

N° Tratamiento	Fechas de Aplicación							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1 Calendario fijo	28/12	11/12	26/12	09/01	23/01	06/02		
2 7 VSE, Mancozeb	11/12	16/12	27/01	04/02				
3 7 VSE, Clorotalonil	11/12	16/12	27/01	04/02				
4 11 VSE, Mancozeb	04/01							
5 11 VSE, Clorotalonil	04/01							
6 15 VSE, Mancozeb	17/01							
7 15 VSE, Clorotalonil	17/01							
8 Testigo sin aplicación	—	—	—	—	—	—	—	—

Cuadro 7 . Ensayo de control químico para *Alternaria* spp.
 Productor : Francisco Ureta, Talca. 1996-97.

Tratamiento	Nº Frutos <i>Alternaria</i> spp. / 10 plantas	Nº Aplicaciones en la temporada
1 Calendario fijo	21,75 a	6
2 Cada 7 VSE mancozeb en 2 kg/ha	13,00 a	4
3 Cada 7 VSE clorotalonil en 1,2 kg/ha	10,00 a	4
4 Cada 11 VSE mancozeb en 2 kg/ha	18,50 a	1
5 Cada 11 VSE clorotalonil en 1,2 kg/ha	25,20 a	1
6 Cada 15 VSE mancozeb en 2 kg/ha	15,25 a	1
7 Cada 15 VSE clorotalonil en 1,2 kg/ha	15,50 a	1
8 Testigo	15,25 a	—

Medias seguidas de igual letra no difieren entre sí (P=0.05) según Test de Duncan.

Los resultados indican que no hubo diferencias entre el testigo sin aplicación, la aplicación a calendario fijo y los tratamientos en base a los diferentes VSE dados por el TOM-CAST durante la temporada 1996-97. Esto permitió ajustar las aplicaciones iniciales a valores mayores de VSE durante la segunda temporada.

Durante la segunda temporada, en el caso del productor Rodrigo Sirvent y Fernando Gutiérrez, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos de control químico de *Alternaria* spp., lo que significa que para sus condiciones, en esa temporada, no se justificó el control de estos hongos en el cultivo del tomate.

De igual forma para ambos productores, la severidad de la enfermedad en el testigo fue moderada a baja.

En el caso del productor Alvaro Donoso, de la localidad de HUILQUILEMU, TALCA, se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de control, los que se detallan a continuación:

Cuadro 8. Progreso de la enfermedad en los diferentes tratamientos de control (Incidencia y Severidad). Productor : Alvaro Donoso, Talca 1997/98.

Incidencia *Alternaria*

Fechas	(DDT)	Tratamientos								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
18/12	31	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/01	49	5	0	2,5	0	0	7,5	2,5	2,5	2,5
22/01	66	22,5	17,5	17,5	20	25	30	25	32,5	25
4/02	79	40	40	37,5	42,5	42,5	45	32,5	45	60
18/02	93	70	67,5	65	62,5	55	77,5	77,5	72,5	75

Severidad *Alternaria*

Fechas	(DDT)	Tratamientos								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
18/12	31	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5/01	49	0,5	0	0	0,25	0	0,75	0,25	0,25	0,25
22/01	66	1	0,75	0,75	1	1	1	1	1	1
4/02	79	1	1	1	1	1	1	1	1	1,25
18/02	93	1	1	1	1	1	1	1	1,25	1,75

Figura 5

Incidencia de la enfermedad en los diferentes tratamientos de control, en la última fecha de muestreo.
Productor : Alvaro Donoso, Talca 1997/98

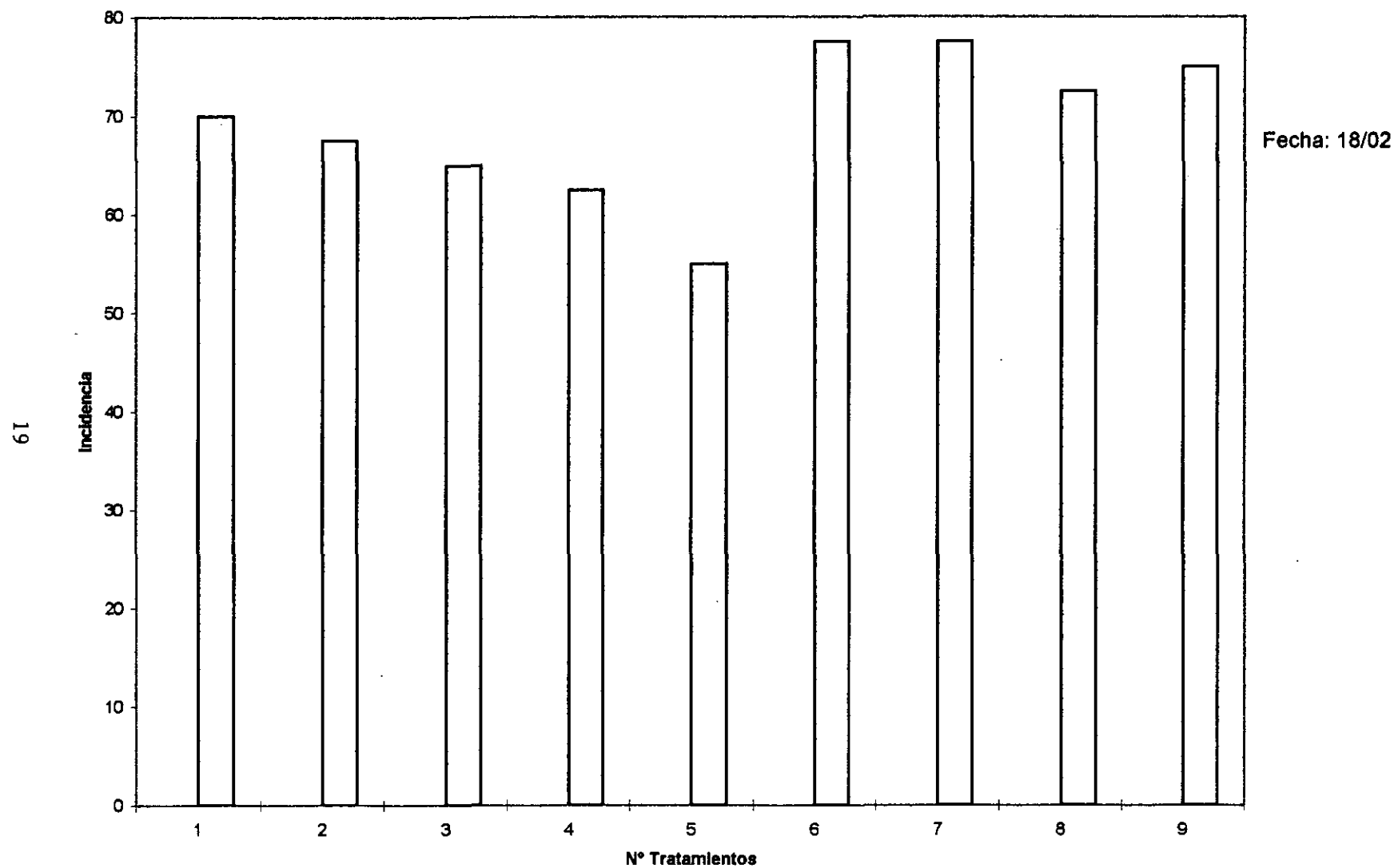


Figura 6

Severidad de la enfermedad en los diferentes tratamientos de control, en la última fecha de muestreo.
Productor : Alvaro Donoso, Talca 1997/98

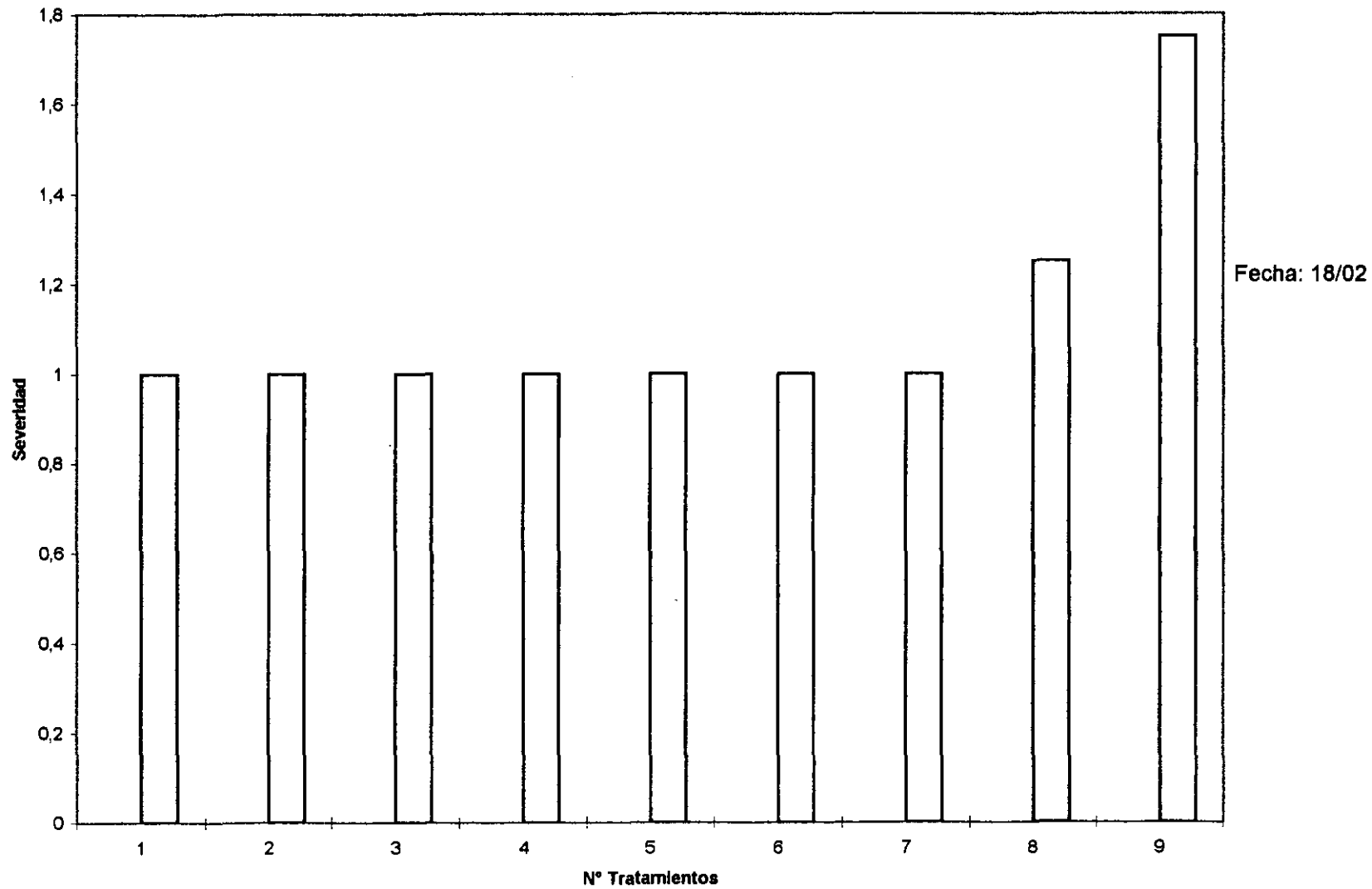
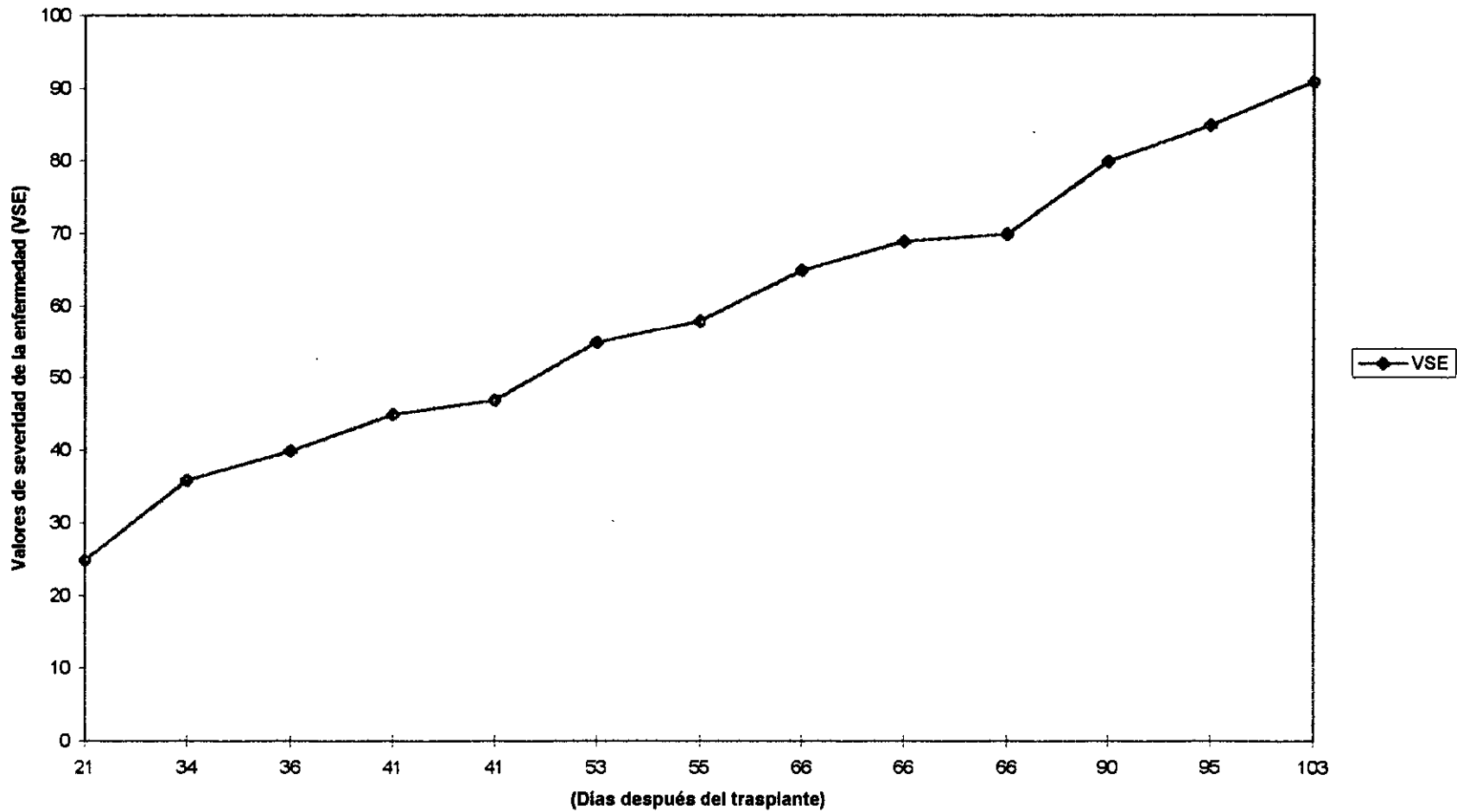


Figura 7

Acumulación de valores de severidad de la enfermedad (VSE) durante la temporada de cultivo 1997/98.

Productor : Alvaro Donoso, Talca

Fecha Plantación :
17 Noviembre 1997



Cuadro 9. Fechas Aplicación de tratamientos fungicidas.
Agricultor : Sr. Alvaro Donoso. Talca

N° Tratamiento	FECHAS DE APLICACIÓN							
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a
1 Calendario fijo	24/11	12/12	29/12	13/01	27/01	12/02	27/02	--
2 c/11 VSE (Mancozeb)*	7/12	20/12	27/12	10/01	21/01	14/02	27/02	--
3 c/11 VSE (Clorotalonil)	7/12	20/12	27/12	10/01	21/01	14/02	27/02	--
4 c/15 VSE (Mancozeb)	7/12	22/12	8/01	21/01	19/02	--	--	--
5 c/15 VSE (Clorotalonil)	7/12	22/12	8/01	21/01	19/02	--	--	--
6 c/15 VSE (Score)	7/12	22/12	8/01	21/01	19/02	--	--	--
7 c/20 VSE (Mancozeb)	7/12	27/12	21/01	19/02	--	--	--	--
8 c/20 VSE (Clorotalonil)	7/12	27/12	21/01	19/02	--	--	--	--
9 Testigo	--	--	--	--	--	--	--	--

* Todas las aplicaciones con VSE (TOM-CAST) se iniciaron con 25 VSE como base (Tratamientos 2 a 8) y luego se siguió de acuerdo a los intervalos indicados.

Cuadro 10. Ensayo de control químico para *Alternaria solani* y *A. alternata*.
 Productor: Alvaro Donoso, Talca 1997-1998.

Tratamiento	Porcentaje frutos infectados con <i>Alternaria</i> spp.	N° Aplicaciones en la temporada
1 Calendario fijo	2.40 b c	7
2 Cada 11 VSE mancozeb en 2 kg/ha	3.40 a b	7
3 Cada 11 VSE clorotalonil	1.55 c	7
4 Cada 15 VSE mancozeb en 2 kg/ha	1.02 c	5
5 Cada 15 VSE clorotalonil	2.47 b c	5
6 Cada 15 VSE difenoconazole 500 cc/ha	1.12 c	5
7 Cada 20 VSE mancozeb en 2 kg/ha	4.80 a b	4
8 Cada 20 VSE cloratolonil	2.95 a b c	4
9 Testigo	5.62 a	--

Medias seguidas de igual letra no difieren entre sí (P=0.05) según Prueba de DMS. (Diferencias Mínimas Significativas).

El testigo sin aplicación obtuvo el mayor porcentaje de frutos con *Alternaria* spp, de 5,62%.

Cabe destacar que los menores porcentajes de frutos infectados se obtuvieron con los tratamientos cada 11 VSE con clorotalonil, cada 15 VSE con mancozeb y cada 15 VSE con difenoconazole. En los dos últimos tratamientos se hicieron 5 aplicaciones en toda la temporada, de acuerdo a los datos proporcionados por el equipo TOM-CAST. Esto significa efectuar 3 aplicaciones menos de productos que el tratamiento a calendario fijo recomendado por IANSA, obteniéndose iguales o mejores resultados en cuanto a sanidad de los frutos.

Se debe destacar que el manejo de este cultivo fue óptimo, con plantas sanas, vigorosas y uniformes durante toda la temporada de cultivo, lo que permitió que se expresaron las diferencias entre los tratamientos sin interferencias de otros factores de manejo.

Además, la severidad de la enfermedad fue más alta que en los otros dos casos, obteniendo el testigo nota 1.75.

ETAPA 7.

Análisis de residuos de fungicidas en tomates

Investigadora Responsable : María Stella Moyano A.
Químico Lab. M Sc.

Los análisis de residuos de mancozeb, clorotalonil y difenoconazole fueron realizados en el Laboratorio de Bioquímica y Fisiología Vegetal, CRI - La Platina, siguiendo el procedimiento que a continuación se detalla:

Las muestras llegaron al laboratorio en mallas, con un peso aproximado de 2 kilos, se ingresaron con el número correlativo del laboratorio, la fecha de llegada, anotándose además, la identificación y datos originales.

CLOROTALONIL

Luego de ingresadas las muestras, cada una se dividió en dos porciones de un kilo, una fue molida y homogeneizada, guardándose aproximadamente 250 g en un frasco de vidrio, en congelador a menos 20°C hasta el análisis, la otra porción se guardó entera, en bolsa de papel y congelada a menos 20°C como contramuestra.

Método analítico: El método de extracción usado para Clorotalonil corresponde al descrito por Steinwandter (1) que consiste en pesar una cantidad de muestra previamente molida y homogeneizada, adicionar una mezcla acetona - diclorometano, extraer con homogenizador ultraturrax, luego se evapora el solvente a sequedad en evaporador rotatorio con vacío a 40°C.

Los extractos se pasan por columnas de vidrio que contienen florisil, el cual retiene los pigmentos (clean-up) y luego el pesticida es eluido de la columna con una mezcla de diclorometano / acetonitrilo / hexano, los solventes eluidos se evaporan a sequedad en evaporador rotatorio a 50°C con vacío, el residuo se lleva a volumen con hexano para su posterior cuantificación (2).

En la separación y cuantificación de clorotalonil se usó un cromatógrafo gaseoso con detector de captura de electrones, a diario se pasó una curva del estándar puro, se calculó la ecuación de regresión lineal con las diferentes concentraciones de la curva versus las áreas entregadas por el integrador del cromatógrafo, interpolando en ella los datos de áreas de las muestras.

Para estudiar la recuperación del método empleado, se homogeneizaron 250 gramos de tomate sin aplicación de fungicida, a los cuales se les adicionó una cantidad conocida del estándar de clorotalonil, nuevamente se homogeneizó, guardándose posteriormente en diferentes frascos de vidrio, a menos 20°C hasta su análisis.

CONDICIONES CROMATOGRAFICAS

Equipo	: Cromatógrafo de gases Perkin Elmer 8600 con detector de captura de electrones.
Columna	: GP 4% SE - 30 / 6 % SP-2401, de vidrio 2m* 2mm
Gas carrier	: 5 % argón / metano 30 ml/min
Impresora:	: Epson FX - 85
Make up	: 60 ml/min

En la siguiente tabla se presentan los datos de los % de recuperación obtenidos a tres niveles de adición del estándar de clorotalonil, con 5 repeticiones cada uno y el coeficiente de variación porcentual en cada nivel.

PRINCIPIO ACTIVO	NOMBRE COMERCIAL	ADICION ppm (mg/kg)	% DE RECUPERACION n=5	COEFICIENTE DE VARIACION (%)
Clorotalonil	Bravo	0.212	80.2	5.5
		0.476	91.0	4.8
		1.059	87.9	2.2

MANCOZEB

Las muestras para la determinación de mancozeb se guardaron sin moler, en bolsas de papel, a menos 20°C para evitar la degradación del ditiocarbamato.

Método analítico: el método de extracción usado para el análisis de residuos en las muestras de tomates, corresponde al citado en (3, 4, 5), que consiste en un sistema de destilación fabricado especialmente para la determinación de disulfuro de carbono, que es el gas liberado al tratar con ácido las muestras que contienen residuos de ditiocarbamato como el mancozeb. El esquema del equipo de vidrio utilizado se presenta en la figura 1.

La muestra cortada en trozos pequeños se pone en un balón de destilación, se adiciona una solución de ácido clorhídrico / cloruro de estaño y se coloca el balón sobre una manta calefactora, al hervir, los vapores de disulfuro de carbono liberados pasan a través de dos soluciones para evitar posibles interferentes, la primera es de acetato de plomo y la segunda de hidróxido de sodio. Finalmente el disulfuro de carbono reacciona con el reactivo de coloración, compuesto de acetato de cobre y dietanolamina en etanol, dando una coloración amarilla, se recoge esta última solución, se lleva a volumen con etanol y se lee la absorbancia a 435 nm.

Para la cuantificación del fungicida en las muestras, se hace una curva de por lo menos cinco puntos con disulfuro de carbono puro, mas el reactivo de coloración y se lleva al mismo volumen que las muestras, se espera una hora y se lee la absorbancia. Se calcula la ecuación de regresión lineal y se interpolan los datos obtenidos en las muestras.

Para llevar los resultados a ppm de mancozeb (mg / kg de tomate), se multiplican los miligramos de CS₂ obtenidos de la ecuación por el factor 1,776 (4) y por 10 porque para el análisis se pesan 100 gramos de muestra.

La recuperación del método se realiza agregando cantidades conocidas de estándar de mancozeb mezclado con celite, a 100 g de muestra testigo, se continúa con la metodología descrita anteriormente y los resultados obtenidos se comparan con los resultados de la curva de disulfuro de carbono. El celite es una tierra de diatomeas inerte y se usó para poder diluir el estándar ya que éste es prácticamente insoluble en agua y la mayoría de los solventes orgánicos.

La tabla que se presenta a continuación muestra los % de recuperación a 4 niveles de adición del estándar de mancozeb, con 5 repeticiones de cada uno y el coeficiente de variación en % de cada nivel.

PRINCIPIO ACTIVO	ADICION ppm (mg/kg)	% DE RECUPERACION n= 5	COEFICIENTE DE VARIACION (%)
Mancozeb	0.5	85.27	1.8
	1.0	100.20	6.5
	1.5	97.60	1.9
	2.0	78.40	3.6

Para la cuantificación del fungicida en las muestras, se hace una curva de por lo menos cinco puntos con disulfuro de carbono puro, mas el reactivo de coloración y se lleva al mismo volumen que las muestras, se espera una hora y se lee la absorbancia. Se calcula la ecuación de regresión lineal y se interpolan los datos obtenidos en las muestras.

Para llevar los resultados a ppm de mancozeb (mg / kg de tomate), se multiplican los miligramos de CS₂ obtenidos de la ecuación por el factor 1,776 (4) y por 10 porque para el análisis se pesan 100 gramos de muestra.

La recuperación del método se realiza agregando cantidades conocidas de estándar de mancozeb mezclado con celite, a 100 g de muestra testigo, se continúa con la metodología descrita anteriormente y los resultados obtenidos se comparan con los resultados de la curva de disulfuro de carbono. El celite es una tierra de diatomeas inerte y se usó para poder diluir el estándar ya que éste es prácticamente insoluble en agua y la mayoría de los solventes orgánicos.

La tabla que se presenta a continuación muestra los % de recuperación a 4 niveles de adición del estándar de mancozeb, con 5 repeticiones de cada uno y el coeficiente de variación en % de cada nivel.

PRINCIPIO ACTIVO	ADICION ppm (mg/kg)	% DE RECUPERACION n = 5	COEFICIENTE DE VARIACION (%)
Mancozeb	0.5	85.27	1.8
	1.0	100.20	6.5
	1.5	97.60	1.9
	2.0	78.40	3.6

APPARATUS FOR THE DETERMINATION OF DITHIOCARBAMATES

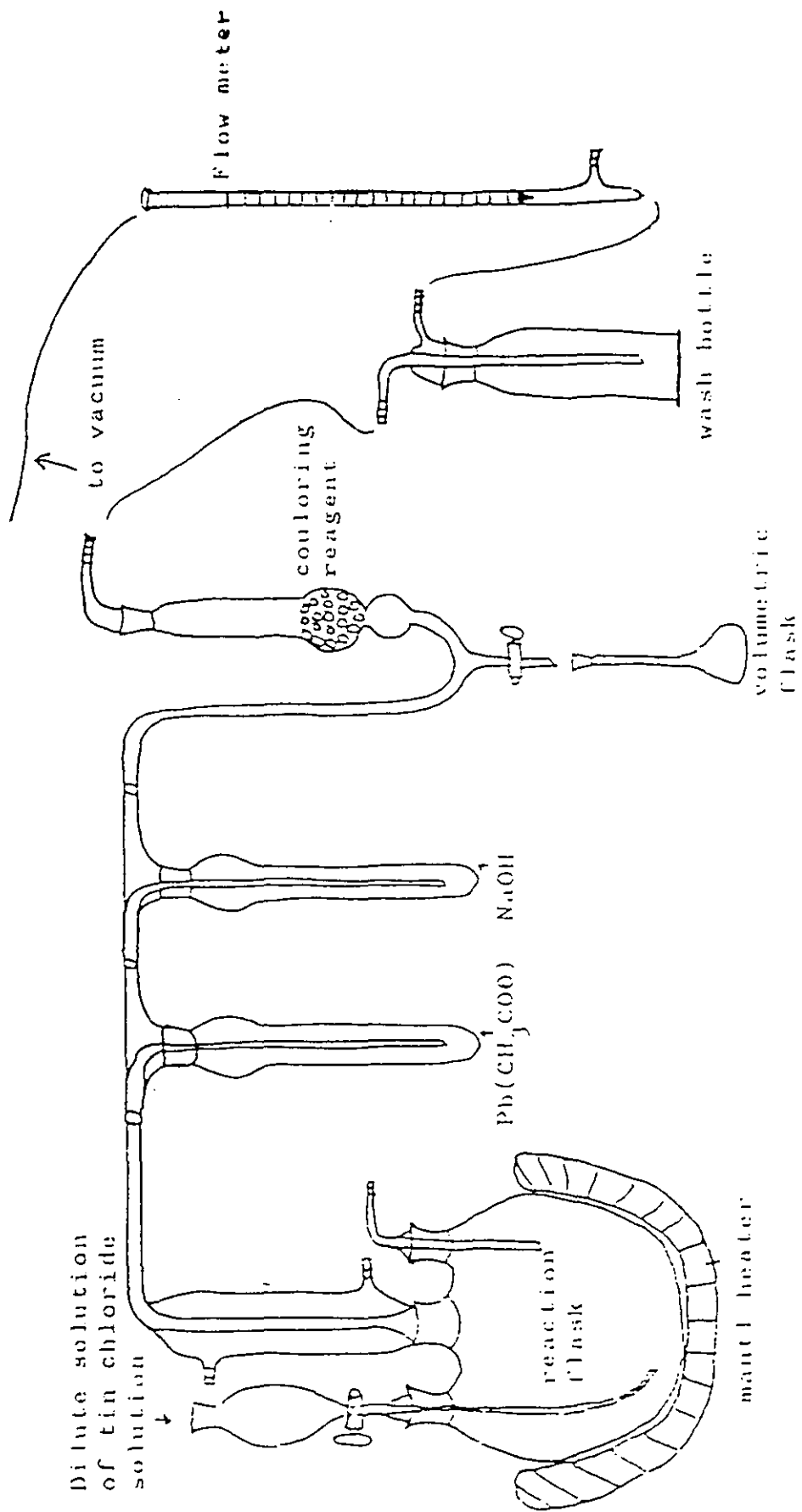


FIGURE 1

DIFENOCONAZOLE

Las muestras para la determinación de residuos de difenoconazole corresponden sólo a la segunda temporada y mientras se calibraba el método fueron guardadas en bolsas de papel y congeladas a menos 20°C.

Método analítico: se usó el método proporcionado por la Empresa Novartis (7), con algunas modificaciones para adaptarlo al laboratorio. El estándar analítico (99,3 % de pureza) también fue un aporte de Novartis.

La muestra es extraída en un sistema de reflujo durante dos horas, con una solución metanol / hidróxido de amonio concentrado (8:2), luego de filtrar, se toma una alícuota del extracto y se particiona con hexano; una fracción del hexano se particiona con acetonitrilo, se concentra y se lleva a volumen.

La identificación y cuantificación de los residuos se hizo por cromatografía de gases.

CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Equipo	: Cromatógrafo de gases Perkin Elmer 8600 con detector de captura de electrones y sistema de integración incorporado
Columna	: 3 % OV-17 en Gas Chrom Q, 100-120 mesh; de vidrio 2m* 2mm
Gas carrier	: 5 % argón / metano a 45 psi
Make up	: 5 % argón / metano a 30 psi
Temperaturas	: Inyector 320°C, detector 350°C, horno 300°C
Tiempo de retención:	3.8 min.

Se hizo una curva entre los rangos de concentración de 0,08 ng y 2,15 ng por 2 ul de inyección en el cromatógrafo, dando un $r = 0,9976$.

Porcentajes de recuperación: Se adicionó estándar diluido a una muestra testigo, dejándola en 0,5 ppm de difenoconazole, se hicieron 5 repeticiones de esta muestra así fortificada, dando un % de recuperación promedio (%R) de 95,49 y un coeficiente de variación (CV) de 3,20.

A continuación se presentan los resultados y las observaciones de los residuos de clorotalonil y mancozeb en las dos temporadas y los de difenoconazole de la segunda temporada.

**ANALISIS DE RESIDUOS DE MANCOZEB Y CLOROTALONIL
MUESTRAS DE TOMATES (Temporada 96/97)**

# Lab.	F. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
41-97	26/02/97	1a	Juan Fco. Ureta Talca	Mancozeb y Clorotalonil	0.27	ND
42-97		1b			ND	0.11
43-97		1c			ND	0.06
44-97		1d			ND	tr
45-97	26/02/97	2a	Juan Fco. Ureta Talca	Mancozeb	0.41	
46-97		2b			0.56	
47-97		2c			0.33	
48-97		2d			0.33	
49-97	26/02/97	3a	Juan Fco. Ureta Talca	Clorotalonil		0.26
50-97		3b				0.21
51-97		3c				0.25
52-97		3d				0.23
53-97	26/02/97	4a	Juan Fco. Ureta Talca	Mancozeb	tr	
54-97		4b			0.33	
55-97		4c			0.27	
56-97		4d			0.34	
57-97	26/02/97	5a	Juan Fco. Ureta Talca	Clorotalonil		0.42
58-97		5b				0.35
59-60		5c				0.23
60-97		5d				0.27

# Lab.	F. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
61-97	26/02/97	6a	Juan Fco. Ureta Talca	Mancozeb	0.31	
62-97		6b			0.34	
63-97		6c			0.31	
64-97		6d			0.31	
65-97	26/02/97	7a	Juan Fco. Ureta Talca	Clorotalonil		0.24
66-97		7b				tr
67-97		7c				0.21
68-97		7d				0.19
69-97	26/02/97	8a	Juan Fco. Ureta Talca	Testigo sin aplicación Mancozeb y Clorotalonil	ND	tr
70-97		8b			ND	tr
71-97		8c			ND	tr
72-97		8d			ND	0.07
73-97	26/02/97	Test.1	Juan Fco. Ureta Talca	Testigo comercial Mancozeb y Clorotalonil	ND	tr
74-97		Test.2			ND	tr
75-97		Test.3			ND	tr
76-97		Test.4			ND	tr

# Lab.	F. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
119-97	20/03/97	1a	E. Spinello Curicó	Mancozeb y Clorotalonil	tr	0.06
120-97		1b			ND	0.13
121-97		1c			ND	0.09
122-97		1d			ND	tr
123-97	20/03/97	2a	E. Spinello	Mancozeb	0.38	
124-97		2b			0.38	
125-97		2c			tr	
126-97		2d			0.25	
127-97	20/03/97	3a	E. Spinello Curicó	Clorotalonil		0.18
128-97		3b				0.17
129-97		3c				0.20
130-97		3d				0.24
131-97	20/03/97	4a	E. Spinello Curicó	Mancozeb	tr	
132-97		4b			ND	
133-97		4c			0.57	
134-97		4d			ND	
135-97	20/03/97	5a	E. Spinello Curicó	Clorotalonil		0.07
136-97		5b				0.20
137-97		5c				0.19
138-97		5d				0.26

# Lab.	F. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
139-97	20/03/97	6a	E. Spinello Curicó	Mancozeb	ND	
140-97		6b			ND	
141-97		6c			ND	
142-97		6d			ND	
143-97	20/03/97	7a	E. Spinello Curicó	Clorotalonil		0.09
144-97		7b				ND
145-97		7c				tr
146-97		7d				tr
147-97	20/03/97	8a	E. Spinello Curicó	Testigo sin aplicación Mancozeb y Clorotalonil	ND	ND
148-97		8b			ND	ND
149-97		8c			ND	ND
150-97		8d			ND	ND

# Lab.	F. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
151-97	20/03/97	1a	Miguel Donoso Talca	Mancozeb y Clorotalonil	tr	ND
152-97		1b			tr	ND
153-97		1c			tr	ND
154-97		1d			tr	tr
155-97	20/03/97	2a	Miguel Donoso Talca	Mancozeb	0.25	
156-97		2b			0.37	
157-97		2c			0.46	
158-97		2d			tr	
159-97	20/03/97	3a	Miguel Donoso Talca	Clorotalonil		0.30
160-97		3b				0.26
161-97		3c				0.20
162-97		3d				0.22
163-97	20/03/97	4a	Miguel Donoso Talca	Mancozeb	tr	
164-97		4b			tr	
165-97		4c			ND	
166-97		4d			tr	
167-97	20/03/97	5a	Miguel Donoso Talca	Clorotalonil		0.17
168-97		5b				0.21
169-97		5c				0.14
170-97		5d				0.18

# Lab.	F. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
171-97	20/03/97	6a	Miguel Donoso Talca	Mancozeb	tr	
172-97		6b			tr	
173-97		6c			0.26	
174-97		6d			tr	
175-97	20/03/97	7a	Miguel Donoso Talca	Clorotalonil		0.11
176-97		7b				0.12
177-97		7c				0.12
178-97		7d				0.35
179-97	20/03/97	8a	Miguel Donoso Talca	Testigo sin aplicación Mancozeb y Clorotalonil	ND	ND
180-97		8b			ND	ND
181-97		8c			ND	ND
182-97		8d			ND	ND

NOTAS :

ND : No Detectado

tr : trazas

MANCOZEB — tr < 0,25 ppm

CLOROTALONIL — tr < 0,06 ppm

ANALISIS DE FUNGICIDAS EN TOMATES (temporada 97 / 98)

# lab.	Fech. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
05.98	5/03/98	1a	Sr. Rodrigo Sirvent Curicó	Mancozeb y Clorotalonil	ND	ND
06.98		1b			ND	tr
07.98		1c			ND	ND
08.98		1d			ND	tr
09.98	5/03/98	2a	Sr. Rodrigo Sirvent Curicó	Mancozeb	ND	
10.98		2b			0.28	
11.98		2c			0.25	
12.98		2d			0.38	
13.98	5/03/98	3a	Sr. Rodrigo Sirvent Curicó	Clorotalonil		0.04
14.98		3b				0.06
15.98		3c				0.03
16.98		3d				0.05
17.98	5/03/98	4a	Sr. Rodrigo Sirvent Curicó	Mancozeb	1.18	
18.98		4b			0.26	
19.98		4c			0.40	
20.98		4d			0.54	
21.98	5/03/98	5a	Sr. Rodrigo Sirvent Curicó	Clorotalonil		0.03
22.98		5b				0.05
23.98		5c				0.09
24.98		5d				0.10

# Lab.	Fech. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
25.98	5/03/98	7a	Sr. Rodrigo Sirvent Curicó	Mancozeb	0.47	
26.98		7b			0.49	
27.98		7c			0.71	
28.98		7d			0.33	
29.98	5/03/98	8a	Sr. Rodrigo Sirvent Curicó	Clorotalonil		0.09
30.98		8b				0.04
31.98		8c				0.08
32.98		8d				0.05
33.98	5/03/98	9a	Sr. Rodrigo Sirvent Curicó	Testigo sin aplicación	tr	0.04
34.98		9b			ND	0.06
35.98		9c			tr	0.04
36.98		9d			ND	0.03
					<u>Difenoconazole</u>	
37.98	5/03/98	6a	Sr. Rodrigo Sirvent Curicó	Difenoconazole	tr	
38.98		6b			0.044	
39.98		6c			tr	
40.98		6d			0.026	

# Lab.	Fech. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
41.98	13/03/98	1a	Sr. Fernando Gutierrez Talca-1	Mancozeb y Clorotalonil	tr	0.03
42.98		1b			tr	0.03
43.98		1c			tr	0.03
44.98		1d			tr	0.04
45.98	13/03/98	2a	Sr. Fernando Gutierrez Talca-1	Mancozeb	0.64	
46.98		2b			0.78	
47.98		2c			0.38	
48.98		2d			0.60	
49.98	13/03/98	3a	Sr. Fernando Gutierrez Talca-1	Clorotalonil		0.06
50.98		3b				0.17
51.98		3c				0.62
52.98		3d				0.45
53.98	13/03/98	4a	Sr. Fernando Gutierrez Talca-1	Mancozeb	0.32	
54.98		4b			tr	
55.98		4c			tr	
56.98		4d			0.34	
57.98	13/03/98	5a	Sr. Fernando Gutierrez Talca-1	Clorotalonil		0.06
58.98		5b				0.18
59.98		5c				0.09
60.98		5d				0.06

# Lab.	Fech. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
65.98	13/03/98	7a	Sr. Fernando Gutierrez Talca-1	Mancozeb	0.81	
66.98		7b			0.42	
67.98		7c			0.70	
68.98		7d			0.54	
69.98	13/03/98	8a	Sr. Fernando Gutierrez Talca-1	Clorotalonil		0.10
70.98		8b				0.07
71.98		8c				0.09
72.98		8d				0.08
73.98	13/03/98	9a	Sr. Fernando Gutierrez Talca-1	Testigo	tr	ND
74.98		9b			ND	ND
75.98		9c			ND	ND
76.98		9d			ND	tr
					<u>Difenoconazole</u>	
61.98	13/03/98	6a	Sr. Fernando Gutierrez Talca-1	Difenoconazole	0.046	
62.98		6b			0.031	
63.98		6c			0.095	
64.98		6d			tr	

# Lab.	Fech. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
77.98	13/03/98	1a	Sr. Alvaro Donoso Talca-2	Mancozeb y Clorotalonil	ND	0.03
78.98		1b			ND	0.04
79.98		1c			ND	0.04
80.98		1d			ND	0.07
81.98	13/03/98	2a	Sr. Alvaro Donoso Talca-2	Mancozeb	0.34	
82.98		2b			0.39	
83.98		2c			0.54	
84.98		2d			0.34	
85.98	13/03/98	3a	Sr. Alvaro Donoso Talca-2	Clorotalonil		0.20
86.98		3b				0.08
87.98		3c				0.10
88.98		3d				0.15
89.98	13/03/98	4a	Sr. Alvaro Donoso Talca-2	Mancozeb	tr	
90.98		4b			0.36	
91.98		4c			0.51	
92.98		4d			tr	
93.98	13/03/98	5a	Sr. Alvaro Donoso Talca-2	Clorotalonil		0.12
94.98		5b				0.10
95.98		5c				0.10
96.98		5d				0.05

# Lab.	Fech. Ingreso	Ident. Orig.	Agricultor-Lugar	Aplicaciones	RESULTADOS (ppm)	
					Mancozeb	Clorotalonil
101.98	13/03/98	7a	Sr. Alvaro Donoso Talca-2	Mancozeb	0.32	
102.98		7b			tr	
103.98		7c			0.33	
104.98		7d			0.26	
105.98	13/03/98	8a	Sr. Alvaro Donoso Talca-2	Clorotalonil		0.05
106.98		8b				0.06
107.98		8c				0.10
108.98		8d				0.07
109.98	13/03/98	9a	Sr. Alvaro Donoso Talca-2	Testigo	ND	ND
110.98		9b			ND	ND
111.98		9c			ND	ND
112.98		9d			ND	ND
97.98	13/03/98	6a	Sr. Alvaro Donoso Talca-2	Difenoconazole	<u>Difenoconazole</u>	
98.98		6b			0.054	
99.98		6c			0.025	
100.98		6d			0.03	
					tr	

NOTAS :

ND : No Detectado
tr : trazas

MANCOZEB	-----	tr < 0,25 ppm
CLOROTALONIL	-----	tr < 0,03 ppm
DIFENCONAZOLE	-----	tr < 0.02 ppm

OBSERVACIONES

Residuos de Clorotalonil (Primera temporada):

En las muestras del Sr. Ureta de Talca, los niveles de residuos encontrados van desde no detectados hasta 0,42 ppm; es importante destacar que en muestras inscritas como sin aplicación del fungicida se detectaron trazas (< 0,06-0,07 ppm).

Los residuos en las muestras del Sr. Spinello de Curicó, estuvieron en un rango desde no detectado hasta 0,26 ppm, no encontrándose residuos de clorotalonil en aquellas sin aplicación.

En las muestras del tercer agricultor, Sr. Donoso de Talca, el rango de residuos encontrados van desde no detectados hasta 0,35 ppm de clorotalonil, no encontrándose residuos en los tomates sin aplicación.

Residuos de Clorotalonil (Segunda temporada):

En las muestras de Curicó los niveles de residuos encontrados van desde no detectados hasta 0,1 ppm , es importante destacar que en las cuatro muestras inscritas como sin aplicación del fungicida se detectaron niveles de clorotalonil desde 0,03 hasta 0,06 ppm.

Los residuos encontrados en las muestras del Sr. Gutiérrez de Talca, estuvieron en un rango desde no detectado hasta 0,62 ppm, encontrándose sólo en una muestra, trazas de clorotalonil en aquellas sin aplicación.

En las muestras del tercer agricultor, Sr. Donoso de Talca, el rango de residuos encontrados va desde no detectados hasta 0,20 ppm de clorotalonil, no encontrándose residuos en los tomates sin aplicación.

El valor mas alto de residuo encontrado fue de 0,62 ppm correspondiente a una muestra de la segunda temporada del agricultor F. Gutierrez en que se hicieron siete aplicaciones del fungicida.

De los resultados anteriormente expuestos, se puede decir que los niveles de clorotalonil están bajo las tolerancias de varios países como EEUU, Canadá y el Codex que tienen un LMR de 5ppm; Bélgica, Alemania, Francia, Italia, Holanda, Inglaterra y la UE tienen un límite de 2 ppm en cambio Brasil tiene una tolerancia de 1 ppm en tomate fresco.(6)

Residuos de Mancozeb:

Primera temporada:

Respecto a los residuos de mancozeb encontrados en las muestras del Sr. Ureta van desde no detectados hasta 0,56 ppm; en las del Sr. Spinello van desde no detectados hasta 0,57 ppm y por último en las muestras del Sr. Donoso van desde no detectados hasta 0,46 ppm.

Segunda temporada:

Los residuos encontrados en las muestras del Sr. Sirvent van desde no detectados hasta 1,18 ppm; en las del Sr. Gutiérrez van desde no detectados hasta 0,81 ppm y por último en las del Sr. Donoso van desde no detectados hasta 0,54 ppm.

El valor mas alto encontrado en las muestras en las dos temporadas es de 1,18 ppm y corresponde a una muestra tomada del Sr. R. Sirvent en la segunda temporada con tres aplicaciones del fungicida.

Los niveles encontrados de mancozeb como se puede apreciar, están bajo los límites máximos permitidos para varios países como EEUU que es de 4 ppm, Bélgica, Francia, Italia y Holanda tienen una tolerancia de 2 ppm pero varias muestras están sobre el LMR de Brasil que es de 0,2 ppm y Canadá que pone la tolerancia de 0,1 ppm cuando no tiene límite establecido, como es en este caso.(6)

Residuos de difenoconazole:

Las muestras corresponden a la segunda temporada del proyecto.

Los niveles de residuos encontrados en las muestras del Sr. R. Sirvent de Curicó van desde trazas hasta 0,044 ppm; en las muestras del Sr. A. Donoso van desde trazas hasta 0,054 ppm y en aquellas del agricultor F. Gutierrez de Talca, van desde trazas hasta 0,095 ppm, siendo este último valor, el más alto encontrado.

REFERENCIAS

- 1.- Fresenius Anal. Chem (1990) **336**: 8-11
- 2.- Pesticide Analytical Methods (1994) vol 1, section 302-C1, 3ª ed. FDA.
- 3.- Analytical Chemistry (1964) vol **36**:1 221-224
- 4.- J. AOAC (1969), vol. **52**:1 162-167
- 5.- J. AOAC (1971), vol.**54**:3 528-532.
- 6.- Agenda de Pesticidas. Asoc. de Exportadores de Chile, A.G. Feb- Mar 1997 p.67-68.
- 7.- Analytical Method N° AG-514, Biochemistry Department. Agricultural Division Ciba Geigy Corporation. Greensboro, NC 27514.
Analytical Method for the determination of CGA-169374 in tomatoes and potatoes by gas chromatography. (certificado el 30/3/87).

ETAPA 8.

Evaluación de híbridos resistentes a hongos

Actividad

Evaluar el comportamiento de híbridos de tomate con resistencia a *Alternaria alternata*.

Durante las dos temporadas de desarrollo del Proyecto se evaluó el comportamiento de 16 híbridos de tomate en relación a la resistencia que presentan contra *Alternaria alternata*.

La plantación, en ambas temporadas, se realizó en Noviembre, en parcelas de 4 hileras de 6 m de largo x 1,35 m de ancho.

La metodología consistió en inocular artificialmente las parcelas con suspensiones concentradas de *Alternaria alternata*, a partir de un aislamiento identificado y multiplicado en el Laboratorio de Fitopatología del CRI La Platina.

Se usó placas de agar-papa-dextrosa con el cultivo del hongo de 7 días mantenido a temperatura ambiente.

Las conidias se colectaron en agua destilada estéril, filtrando por 2 capas de gasa para remover fragmentos de micelio y agregando caldo de papa al 1% para prevenir la deshidratación de las conidias y favorecer su germinación.

La concentración se ajustó a 2×10^5 conidias /ml y se agregó Tween 20 para reducir la tensión superficial de las gotas, pulverizadas, mejorando la distribución sobre la superficie de las plantas.

Se efectuaron 2 inoculaciones en cada temporada, en las últimas horas de la tarde y luego que el cultivo de tomate fue regado por aspersion por varias horas durante el día anterior a la inoculación. Esto se realizó con el objeto de mantener el follaje con agua libre para permitir la germinación y penetración del hongo en la planta.

Las evaluaciones del comportamiento de los híbridos se efectuaron durante la cosecha. Se evaluó 5 plantas por repetición obteniéndose el porcentaje de frutos con síntomas de pudrición negra.

Los resultados obtenidos permitieron seleccionar un grupo de híbridos de tomate que muestran una mayor resistencia ante una fuerte presión del hongo *Alternaria alternata*. Se destaca el híbrido N° 7, con un gran nivel de resistencia, seguido por los cultivares N° 4, 5, y 15. Con un nivel medio de resistencia se encuentran los cultivares 2, 3, 8, 10 y 12.

El uso de estos cultivares por los productores de tomate agroindustrial permitirá contribuir a un control integrado de una de las enfermedades más importantes en este cultivo como es la Pudrición negra o moho negro.

N° 7 = 4551

N° 4 = 9282

5 = 8091

15 = 9020

3. RESULTADOS

- Se confirmó que las principales enfermedades que afectan al tomate industrial en Curicó y Talca son :

Tizones (*Alternaria alternata* y *A. solani*)

Fusariosis (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*)

Verticilosis (*Verticillium dahliae*)

Moho de la hoja (*Stemphylium botryosum*)

Cancro del tallo (*Phytophthora nicotianae*)

- Durante las dos temporadas se pudo determinar la existencia de un inóculo presente de *Alternaria alternata* y *A. solani* desde el comienzo del cultivo, pero que se mantiene en estado latente durante 50 a 60 días después del trasplante.

Los estudios además concluyeron que ambos tipos de *Alternaria* están asociadas en los tejidos vegetales la mayor parte de las veces, sin embargo, la mayor cantidad de inóculo corresponde a *Alternaria alternata*, la que predomina durante la temporada de cultivo y, especialmente, hacia la época de cosecha.

- El Valor de Severidad de la Enfermedad, seleccionado la segunda temporada para iniciar las aplicaciones (25 VSE) con el equipo pronosticador TOM-CAST fue adecuado, ya que correspondió al período de infección latente, antes de que se manifestaran los síntomas de la enfermedad. Este valor se ajustó a partir de los resultados obtenidos la primera temporada del Proyecto.
- Los ensayos de control químico permitieron determinar que en la temporada de cultivo 1996-97, no se justificó el control químico para *Alternaria* spp., debido a los bajos niveles de infección de la enfermedad durante ese período.
- En cambio, durante la segunda temporada, se pudo determinar diferencias significativas entre los tratamientos de control químico para *Alternaria* spp. en uno de los predios seleccionados para el ensayo (productor Alvaro Donoso). Los mejores tratamientos correspondieron a aquellos efectuados en base al equipo pronosticador TOM-CAST, cada 15 VSE, con los fungicidas mancozeb y difenoconazole, después de una aplicación inicial a los 25 VSE, en ambos casos.

De este modo se confirma que al usar equipos pronosticadores se logra reducir el número de aplicaciones de agroquímicos, de 8 efectuadas a calendario fijo (sistema tradicional) a 5 ó menos, según la localidad.

- El análisis de residuos de pesticidas indicó que los niveles de mancozeb y de clorotalonil están bajo las tolerancias permitidas en países de Europa, EE.UU y Canadá.
- Se determinó que existen cultivares de tomate resistentes al ataque de *Alternaria alternata*, que pueden ser usados con éxito en un Programa de Manejo Integrado de Enfermedades en Tomate.

4. CONCLUSIONES

- Como conclusión general se establece que se cumplieron plenamente los objetivos de este Proyecto, consistentes en disminuir el número de aplicaciones de fungicidas en tomate al aire libre sin afectar la calidad de los frutos cosechados. Es así que se logró pasar de un calendario fijo de 8 aplicaciones durante la temporada de cultivo a uno variable, sujeto a la información proporcionada por los equipos pronosticadores, que utilizó de 0 a 5 aplicaciones en la temporada, dependiendo de la localidad y del manejo asociado al cultivo.

La empresa IANSA, basada en estos resultados de investigación, ha reducido su calendario fijo a 6 aplicaciones en la temporada. Esto trae como beneficios una reducción de costos de producción y una disminución de la contaminación ambiental y humana. Asimismo, en la medida que se empiecen a utilizar masivamente los cultivares resistentes a *Alternaria alternata*, se podrá disminuir aún más el uso de pesticidas en tomate.

Las investigaciones realizadas durante los dos años del Proyecto constituyen una base sólida para seguir en este tipo de estudios y llegar a establecer modelos de predicción para el control de enfermedades fungosas en tomate.

5. BIBLIOGRAFIA

- BOOTH, C. & PIROZYNSKI, K.A. 1967. *Pleospora herbarum*. C.M.I. Description of Pathogenic Fungi and Bacteria. CAB. Commonwealth Mycological Institute N°150. Printer in Great Britain By Eastern Press Ltd. London.
- HAWKSWORTH, D.L. & TALBOYS, P.W. 1970. *Verticillium dahliae*. C.M.I. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria N° 256. Great Britain.
- NELSON, P.E., TOUSSOUN, T.A. & MARASAS, W.F.O. 1983. *Fusarium species, an illustrated manual for identification*. University Park, Penn. St. Un. Press. 365 pgs.
- NEWHOOK, F.J., WATERHOUSE, G. & STAMPS, D.J. 1978. Tabular key to the species of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers (CMI)* 143: 1-20.
- ROTEM, J. 1994. *The genus Alternaria. Biology, Epidemiology, and Pathogenicity*. American Phytopathological Society. U.S.A. 326 pgs.