

## **RIZOBACTERIAS CON ACTIVIDAD BIOCONTROLADORA DE *Olpidium virulentus*, COMO POSIBLE VECTOR DEL VIRUS DE LA MACANA DEL FIQUE (*Furcraea* spp.)**

Alexander Smith<sup>1</sup>, Camilo Beltrán-Acosta<sup>1</sup>, Carlos Alberto Mazabuel<sup>2</sup>,  
Leonardo Sastoque, y Alba Marina Cotes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria, CBB  
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica

<sup>2</sup>Empaques del Cauca S.A.  
amcotes@corpoica.org.co

La planta de fique (*Furcraea* spp.) es fuente de fibra natural (MADR, 2006), la cual se extrae de las hojas de la planta y de esta actividad de economía campesina depende su sustento económico un importante número de pequeños agricultores y familias, principalmente grupos étnicos indígenas del suroccidente de Colombia.

El cultivo de fique en Colombia se produce principalmente en los departamentos de Antioquia, Caldas, Cauca, Nariño y Santander. Entre los cuales, Nariño presenta la mayor superficie sembrada con más de 7.200 ha y como mayor productor Antioquia con más de 2.8 ton/ha anuales. El rendimiento anual nacional se calcula en 2.4 ton/ha y de fibra seca se calcula en 2 kg/planta/año (MADR, 2006; Cruz, 2008). Aunque existen plantaciones de fique en Ecuador, Venezuela y Costa Rica, Colombia es considerado el mayor productor.

Entre las principales limitantes fitosanitarias del cultivo Pérez (1963) reporta la incidencia de la enfermedad de la macana o rayadilla, la cual se presenta con necrosis y clorosis a lo largo del haz y el envés de la hoja. La sintomatología origina la ruptura de la fibra al momento de hacer la extracción, lo cual arroja pérdidas importantes para los agricultores.

No existen estudios sobre la epidemiología de la enfermedad, sin embargo, se estima que la incidencia en los cultivos del Cauca, principal productor de fique y

posible centro de origen de la macana, sea superior al 30%. En otros departamentos productores de la fibra como Antioquia, Cundinamarca y Santander, la incidencia de la macana es inferior al 5%. La enfermedad es de origen viral y el agente causal es probablemente un Dianthovirus de la familia Tombusviridae (Gálvez *et al.*, 1977; Morales *et al.*, 1992). Se desconoce el modo de transmisión del virus, sin embargo, asociado a los síntomas de la macana en plantas enfermas de fique se ha identificado el hongo *Olpidium virulentus* (Osorio, 2010), el cual está reportado como vector de virus en diferentes patosistemas (Castaño, 1990; Alfaro-Fernández *et al.*, 2010; Varanda *et al.*, 2011).

A partir de las diferentes investigaciones desarrolladas en Corpoica (Cepero de García *et al.*, 2006; Rada, 2009; Sastoque, 2009; Sastoque *et al.*, 2009), en este estudio se evaluó el efecto de las rizobacterias seleccionadas contra el potencial vector de la enfermedad *O. virulentus*.

## Materiales y métodos

### Cepas y medios de cultivo

Para este estudio, se utilizaron aislamientos bacterianos pertenecientes a *Pseudomonas* spp. (Ps) (16), *Bacillus* spp. (Be) (9), y actinomicetos (Ac) (6), previamente aislados de la rizósfera de plantas sanas de fique en cultivos comerciales del Cauca. Los microorganismos fueron crecidos en medio King B, caldo LB y agar avena, respectivamente, en condiciones estandarizadas de laboratorio.

### Actividad biocontroladora

**Control de *O. virulentus* bajo condiciones de invernadero:** La evaluación de las rizobacterias contra *O. virulentus* se realizó en plantas de lechuga Batavia, variedad Colguard, utilizada como planta modelo por su ciclo de vida más corto que el de fique, siendo trasplantadas a materas plásticas de 500 g con una mezcla de suelo y turba en relación 10:1. Las raíces de plantas de lechuga se inocularon directamente con cada uno de los microorganismos antagonistas, a una concentración de  $1 \times 10^9$  células.mL<sup>-1</sup>. Las plantas fueron inoculadas con una cepa virulenta de *O. virulentus* a  $1 \times 10^5$  esporas de resistencia.mL<sup>-1</sup> y se llevó a cabo en forma de inoculante líquido o sólido. Como testigo biológico se utilizó el bioplaguicida a base de *Trichoderma koningiopsis* Th003 la inoculación del bioplaguicida en polvo mojable (WP), desarrollado en el Laboratorio de Control Biológico del Centro de Biotecnología y Bioindustria, CBB de Corpoica, y la aplicación de agua destilada estéril como testigo absoluto (Tabla 1). Cada experimento se replicó tres veces y se estableció bajo un diseño experimental completamente al azar.

Se evaluó la incidencia del posible vector en raíces y la severidad de la enfermedad en plantas de lechuga durante 60 días después del trasplante (ddt), mediante el uso de una escala de severidad de la enfermedad (Figura 1, Tabla 2).

**Tabla 1.** Descripción de tratamientos evaluados en plantas de lechuga bajo invernadero para el control de *O. virulentus*

No.	Tratamientos
1	Plantas de lechuga en suelo con <i>Olipidium virulentus</i> (Testigo patógeno).
2	Plantas de lechuga tratadas individualmente con cada una de las rizobacterias con posible actividad biocontroladora (31 rizobacterias) o <i>T. koningopsis</i> Th003.
3	Plantas de lechuga en sustrato sin ningún tipo de inoculación (Testigo absoluto).



**Figura 1.** Escala de severidad de la macana en plantas de lechuga.

**Tabla 2.** Escala de severidad del virus de la macana en plantas de lechuga, después de 90 días de evaluación

Nivel	Daño (%)	Síntomas
0	0	No hay presencia de síntomas
1	0 - 10%	Inicio de encrespamiento en hoja
2	10 - 25%	Leves
3	25 - 50%	Severos
4	50 - 70%	Muy severos
5	70 - 100%	Planta muerta

La incidencia de la enfermedad fue evaluada mediante la observación de esporas de resistencia de *O. virulentus* en las raíces de la planta, la biomasa vegetal, la formación de la cabeza de la lechuga y el aspecto de las hojas. Las rizobacterias seleccionadas con base en los resultados observados en lechuga, se evaluaron en nuevos experimentos con vitroplántulas de fique (libres de virus) del ecotipo Uña de Águila, previamente endurecidas (multiplicadas en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal del CBB) utilizando las mismas condiciones anteriormente descritas. Además, se evaluó el efecto de la concentración de rizobacterias seleccionadas ( $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^9$  células.mL<sup>-1</sup>) sobre la actividad biocontroladora del posible vector (Tabla 3). El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa estadístico Statistix 4. Las diferencias estadísticas para la incidencia y severidad se determinaron mediante el ANAVA y una prueba de LSD con un 95% de confianza.

**Tabla 3.** Descripción de tratamientos evaluados en plantas de fique, bajo condiciones de invernadero

Tratamiento	Dosis
Testigo patógeno	<i>O. virulentus</i> - $1 \times 10^5$ esporas de resistencia.mL <sup>-1</sup> .
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Ps006	$1 \times 10^6$ , $1 \times 10^7$ , $1 \times 10^8$ y $1 \times 10^9$ células.mL <sup>-1</sup> .
<i>Pseudomonas putida</i> Ps014	$1 \times 10^6$ , $1 \times 10^7$ , $1 \times 10^8$ y $1 \times 10^9$ células.mL <sup>-1</sup> .
Th003 WP	<i>T. koningiopsis</i> - $1 \times 10^6$ conidios.mL <sup>-1</sup> .
Ps006/Th003	Mezcla de Ps006 ( $1 \times 10^7$ células.mL <sup>-1</sup> ) y Th003 ( $1 \times 10^6$ conidios.mL <sup>-1</sup> ).
Ps014/Th003	Mezcla de Ps014 ( $1 \times 10^7$ células.mL <sup>-1</sup> ) y Th003 ( $1 \times 10^6$ conidios.mL <sup>-1</sup> ).
Ps006/Ps014	Mezcla de Ps006 y Ps014 - $1 \times 10^7$ células.mL <sup>-1</sup> cada una.

**Control de *O. virulentus* bajo condiciones de cultivo:** Cinco parcelas experimentales se establecieron con plantas de fique en el corregimiento de Paniquita, Totoró (Cauca) (Septiembre de 2010). En cada una de las fincas se recolectó una muestra de suelo para el análisis físico-químico de macro y micronutrientes. De esta forma se incorporaron los elementos minerales necesarios para el cultivo, según las recomendaciones de fertilización. En la Tabla 4 se relacionan las fincas del experimento.

### Microorganismos antagonistas

La rizobacteria seleccionada en la etapa de invernadero, con potencial biocontrolador, fue comparada en su eficacia con un producto químico y un testigo absoluto. En la Tabla 5 se describen los tratamientos evaluados.

**Tabla 4.** Descripción de las parcelas experimentales con plantas de fique en el municipio de Totoró (Cauca)

Finca	Ubicación parcela Paniquitá	Coordenadas geográficas	Altura (msnm)	Área (m <sup>2</sup> )
La Granja	Vereda San Antonio,	2° 30.926' N 76° 28.023' O	2.263,44	1.272
Las Mercedes	Vereda San Antonio	2° 30.618' N 76° 27.751' O	2.229,91	1.300
Los Arrayanes	Vereda Hato Viejo	2° 33.225' N 76° 28.013' O	2.364,94	1.969
Las Delicias	Sector Las Delicias	2° 32.116' N 76° 27.794' O	2.247,29	1.300
El Guarandal	Sector El Guarandal	2° 32.175' N 76° 27.604' O	2.319,83	1.305

**Tabla 5.** Descripción de los tratamientos evaluados en campo para el control de *Olpidium virulentus*, posible vector del virus de la macana

No.	Tratamiento	Descripción de aplicación
1	<i>Trichoderma koningiopsis</i> Th003 WP	Aplicaciones en <i>drench</i> inmediatamente después del trasplante y 15, 30, 60 y 90 días después del trasplante. Se aplicaron 30 mL por planta aproximadamente, en concentración de $1 \times 10^6$ conidios.mL <sup>-1</sup>
2	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Ps006	Se aplicó en concentración de $1 \times 10^7$ células.mL <sup>-1</sup> . Las frecuencias de aplicación fueron similares al tratamiento No. 1.
3	Mezcla: Th003 WP + Ps006	Frecuencias y concentraciones similares de aplicación, como en el tratamiento No. 1.
4	Testigo comercial: i.a. Benomilo WP	Dosis de 1 g.L <sup>-1</sup> . Frecuencias similares de aplicación, como en el tratamiento No. 1.
5	Testigo absoluto	No se aplicó ningún producto para el control de <i>O. virulentus</i> .

Los microorganismos antagonistas: *P. fluorescens* Ps006, *T. koningiopsis* Th003 WP y el i.a. Benomilo al momento de la aplicación se diluyeron en agua corriente y se aplicaron con fumigadoras de espalda de cono hueco.

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques completamente aleatorizados, donde el factor de bloqueo fue la pendiente del terreno (dado que la zona es altamente montañosa). El experimento se hizo con cinco repeticiones la unidad experimental consistió en surcos de 15 plantas de fique, sembradas a dos m de distancia entre plantas y 2,5 m entre surcos.

## Evaluaciones

Después del establecimiento de las parcelas experimentales, periódicamente se efectuaron visitas para evaluar el desarrollo de las plantas de fique. Las evaluaciones incluyeron: registro de la incidencia de la enfermedad de la macana y promoción del crecimiento vegetal mediante el conteo del número de hojas en cada planta.

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa estadístico Statistix 4. Con los valores registrados de las variables evaluadas se calculó la desviación estándar. Diferencias estadísticas para la incidencia y severidad se determinaron mediante el ANAVA y el análisis de la LSD con un 95% de confianza.

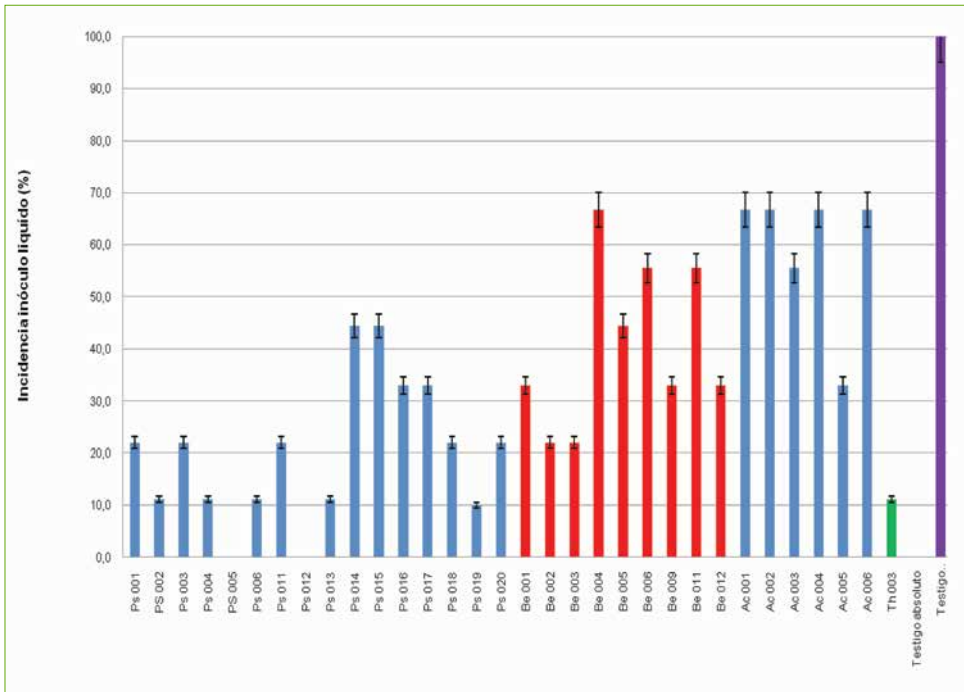
## Resultados y discusión

**Control de *O. virulentus* en plantas de lechuga en condiciones de invernadero:** 60 ddt, la incidencia del potencial vector fue determinada al observar las raíces de las plantas de cada tratamiento, mediante la presencia de zoosporangios y esporas de resistencia de *O. virulentus*, con base en la morfología de las estructuras bajo microscopio óptico. Entre las 597 muestras de raíces de lechuga analizadas para los 33 tratamientos, según el tipo de inóculo patogénico empleado, en un 44% se detectó la presencia de al menos una de las estructuras asociadas al vector. En todos los casos la incidencia de *O. virulentus* en las plantas del testigo patógeno fue del 100%.

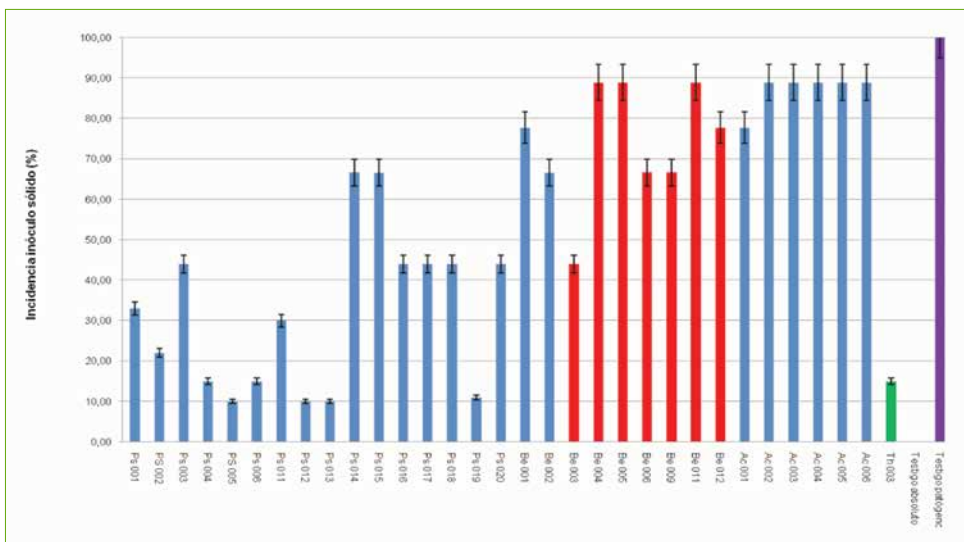
En los tratamientos donde se aplicaron los seis aislamientos de los actinomicetos contra el inóculo patogénico líquido (extracto vegetal con esporas de resistencia de *O. virulentus*) se alcanzó una incidencia promedio entre el 77% - 88%. La incidencia se presentó entre 40% - 88% para las plantas inoculadas con los nueve aislamientos de *Bacillus*, 15% de incidencia para las inoculadas con *T. koningiopsis* Th003, y 10% - 60% para las plantas inoculadas con los aislamientos de *Pseudomonas*. De este grupo de rizobacterias, los aislamientos Ps002, Ps004, Ps005, Ps006, Ps012, Ps013 y Ps019, además de Th003, presentaron diferencias estadísticamente significativas, mostrando incidencias menores al 15%, comparado con el testigo patógeno (100%) (Figura 2).

En los tratamientos en los que se aplicó el inóculo patogénico sólido (suelo con esporas de resistencia de *O. virulentus*) y los aislamientos de los actinomicetos se alcanzó una incidencia promedio entre 33% - 66%, mientras que esta se presentó entre el 22% - 66% para las plantas inoculadas con los aislamientos de *Bacillus*, y el 10% para las inoculadas con *T. koningiopsis* Th003. Así mismo, la incidencia fue menor al 44% para las inoculadas con los aislamientos de *Pseudomonas*, destacándose los aislamientos Ps004, Ps005, Ps006, Ps012, Ps013, Ps019 y Th003, presentando diferencias estadísticamente significativas al expresar incidencias menores al 12%, comparadas con el testigo patógeno (Figura 3).

Cabe destacar que el tratamiento con *T. koningiopsis* Th003 y los realizados con las *Pseudomonas* spp. presentaron una incidencia menor de la enfermedad a lo largo del estudio, lo que podría indicar un positivo comportamiento en el ambiente de la raíz por parte de estos antagonistas (Figura 2 y 3).



**Figura 2.** Incidencia observada para los 34 tratamientos evaluados con inóculo líquido de *O. virulentus* (extracto vegetal con esporas de resistencia). Las barras verticales indican la desviación estándar. Ps: *Pseudomonas* spp., Be: *Bacillus* spp., Ac: Actinomicetos.



**Figura 3.** Incidencia observada para los 34 tratamientos evaluados con inóculo sólido de *O. virulentus* (suelo con esporas de resistencia). Las barras verticales indican la desviación estándar. Ps: *Pseudomonas* spp., Be: *Bacillus* spp., Ac: Actinomicetos.

El uso de la escala de severidad, construida a partir de plantas de lechuga como planta modelo, constituyó una herramienta útil al evaluar de forma más detallada la severidad de la enfermedad sobre los tratamientos aplicados.

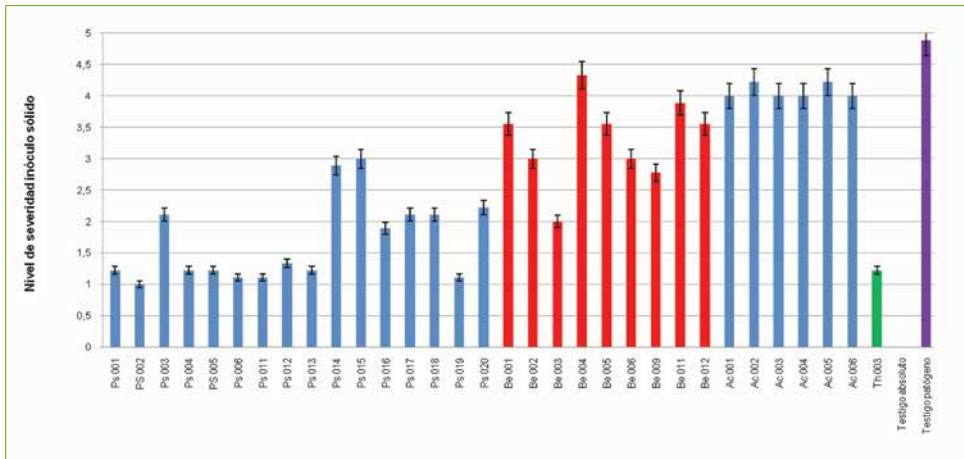
En el testigo patógeno (60 ddt) se observó el grado 5 del índice de severidad (IS), el 100% de las hojas desarrollaron clorosis de las venas, siendo más notorio cerca de la base de las hojas. También se observó una reducción en el tamaño de la planta, un retraso en la formación de la cabeza de la lechuga y una pérdida de la turgencia de las hojas.

Aunque en todos los tratamientos con los antagonistas se evidenció en alguna medida la sintomatología típica de la enfermedad, esta fue alta en el testigo patógeno, en el que las raíces se observaron con una alta concentración de esporas de resistencia, de zoosporangios y una disminución significativa del volumen radical. Los daños observados consistieron en hojas marchitas, cloróticas y en encrespamiento anormal y leve de las mismas, malformación de las hojas, reducción del crecimiento de la planta de manera similar a lo obtenido por Cepero de García y colaboradores (2006) (Figura 4).



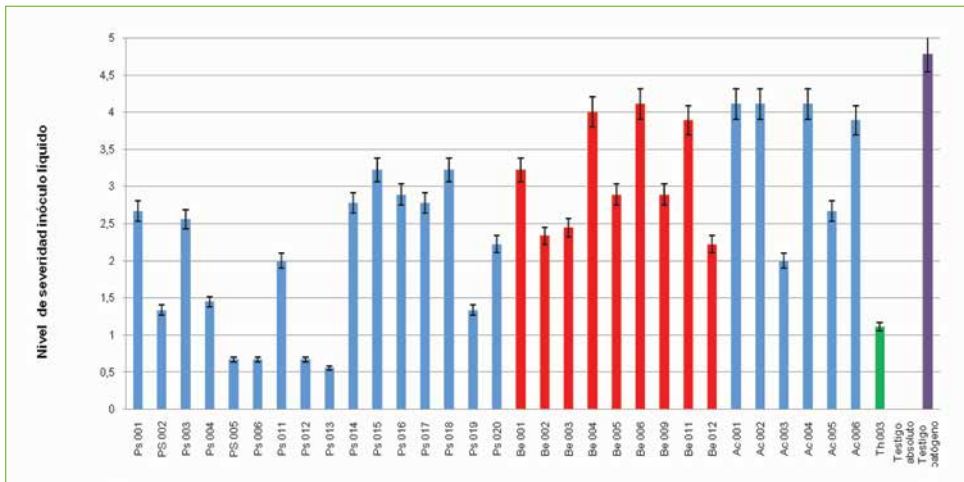
**Figura 4.** Plantas de lechuga inoculadas con *O. virulentus*. **A** y **B.** Plantas con síntomas iniciales de virosis, sembradas en suelos con esporas de *O. virulentus*, y **C.** Planta sembrada en suelo con un aislamiento virulento de *O. virulentus* y *Pseudomonas* spp.

En los tratamientos donde se aplicó el inóculo patógeno sólido y los aislamientos de actinomicetos se alcanzó un nivel de severidad entre 4 - 4,2 (daño entre 50% - 70%); para las plántulas inoculadas con los aislamientos de *Bacillus* se presentó un nivel de severidad entre 2,2 - 4,1; para *T. koningiopsis* Th003 se presentó un nivel de 1,2 (menor al 10% de daño) y para los tratamientos con los aislamientos de *Pseudomonas* se observó un índice entre el 1 - 3. Se seleccionaron los aislamientos Ps001, Ps002, Ps004, Ps005, Ps006, Ps011, Ps012, Ps013 y Ps019 de *Pseudomonas* spp. y Th003, presentando diferencias estadísticamente significativas y exponiendo un índice de severidad menor a 1,3, comparado con el testigo patógeno (IS de 4,8) (Figura 5).



**Figura 5.** Índice de severidad de los 34 tratamientos evaluados con inóculo sólido de *O. virulentus*. Ps: *Pseudomonas* spp., Be: *Bacillus* spp. y Ac: Actinomicetos.

En los tratamientos que se empleó el inóculo patógeno líquido y los actinomicetos se alcanzó un índice de severidad entre 2-4,1 (50% - 70% de daño); para las plántulas inoculadas con cepas de *Bacillus* se observó un nivel de severidad entre el 2,2-4,1; para *T. koningiopsis* Th003 se registró un nivel de 1,2 (menor del 10% de daño), y para los aislamientos de *Pseudomonas*, un índice de severidad entre 0,5 y 3,2. Se destacaron los aislamientos Ps005, Ps006, Ps012 y Ps013, que presentaron diferencias estadísticamente significativas, mostrando un índice de severidad menor de 0,6, comparados con el testigo patógeno (IS de 4,7) (Figura 6).



**Figura 6.** Índice de severidad de los 34 tratamientos evaluados con inóculo líquido de *O. virulentus*. Ps: *Pseudomonas* spp., Be: *Bacillus* spp. y Ac: Actinomicetos.

La inoculación con rizobacterias pertenecientes al género *Pseudomonas* spp. y *T. koningiopsis* Th003 disminuyó la incidencia de la enfermedad, presentando sintomatologías poco severas con respecto al testigo patógeno. También se observó que el índice de severidad de la enfermedad se redujo con valores que oscilaron entre 1,2 - 1,3 por *Pseudomonas* spp. y *T. koningiopsis* Th003, en comparación con 4,8 para las plantas no tratadas. Los mejores aislamientos fueron Ps002, Ps004, Ps005, Ps006, Ps012, Ps013 y Ps019, que presentaron los síntomas más leves en las plantas (Figura 4). Los tratamientos con los aislamientos de *Bacillus* y actinomicetos presentaron un índice de severidad mayor a 2,2, ambos grupos de rizobacterias presentaron diferencias significativas con respecto al testigo patógeno.

Teniendo en cuenta los resultados encontrados por otros autores (Bailey *et al.*, 2006; Bashan y de Bashan, 2005; Marra *et al.*, 2006; Sette *et al.*, 2006; Woo *et al.*, 2006), *Pseudomonas* spp. y *Trichoderma* spp. tienen la capacidad de colonizar los tejidos de la planta, lo cual podría explicar los niveles de control obtenidos con estos microorganismos. Esta colonización puede traer numerosos beneficios a la planta (antibiosis, producción de metabolitos, competencia con otros organismos y mejoramiento de la estructura del suelo, entre otras). La planta en su zona rizosférica genera compuestos como azúcares y polisacáridos, aminoácidos, ácidos orgánicos, ácidos grasos, esteroides, factores de crecimiento, enzimas, flavonoides, auxinas, glucósidos y proteínas solubles, entre otros (Gregory, 2006), de los cuales las rizobacterias se pueden beneficiar en estados iniciales de crecimiento, por ser muchos de estas fuentes primarias de carbono. Este parece ser el caso de los aislamientos seleccionados en esta evaluación, de los cuales Ps004, Ps005, Ps006, Ps012, Ps013, Ps019 y Th003 fueron los más eficientes en la rizósfera de lechuga y tomate (Rada, 2009).

**Control de *O. virulentus* en plantas de fíjico bajo condiciones de invernadero:** Durante la evaluación de las plantas de fíjico hasta 90 ddt no se presentaron los síntomas característicos del virus de la macana (aparición de zonas cloróticas en las hojas de plantas infectadas y puntos necróticos estriados), aun en el testigo patógeno. Sin embargo, al evaluar algunas raíces de plantas de fíjico bajo microscopio se observaron esporas de resistencia del hongo vector, evidenciando su presencia en el suelo y por ende en la raíz. La ausencia de la sintomatología se puede atribuir a la ausencia del virus, a la latencia en el hongo vector o al corto tiempo para expresar síntomas en este material vegetal bajo las condiciones del estudio, así como a bajas concentraciones de inóculo del vector o a condiciones ambientales no favorables durante el ensayo para la expresión de los síntomas del virus.

De los tratamientos evaluados, solo la inoculación de Ps006, identificada metabólicamente y confirmada por análisis molecular como *P. fluorescens*

(Osorio, 2010), aplicada a una concentración de  $1 \times 10^7$  células.mL<sup>-1</sup> favoreció e incrementó significativamente la longitud y ancho de las hojas, la biomasa seca de la parte aérea, al igual que el desarrollo en longitud y la biomasa seca de la raíz de las plantas de fique. Lo anterior se expresa como una relación positiva de Ps006 en la rizósfera de fique.

Estos resultados se ajustan a lo enunciado por Klopper y colaboradores (1989), que mencionaron que las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal como *P. fluorescens* se caracterizan por causar incremento en el desarrollo radical que repercute directamente en el rendimiento de los cultivos. Igualmente, los resultados observados podrían estar relacionados con la producción de fitohormonas, tales como el ácido indol acético (AIA) o derivados de AIA por parte de Ps006, ya que se ha reportado que la capacidad para promover el crecimiento por varias especies de *Pseudomonas* ha sido asociada con la producción de este compuesto (Patten y Glick, 2002). En investigaciones realizadas por Carlier y colaboradores (2008) se observó que la longitud radical de plantas de trigo inoculadas con *P. chlororaphis* fue significativamente mayor al testigo absoluto, con un incremento superior al 78%.

Por otra parte, la cepa Ps014, identificada como *P. putida*, no presentó resultados favorables al ser inoculada en diferentes concentraciones en plantas de fique, a pesar de haber presentado resultados favorables y significativos cuando se evaluó en plantas de lechuga y tomate, en las cuales presentó diferencias significativas en volumen y peso seco radical y en el desarrollo de la parte aérea, expresado en mayor altura y área foliar (Rada, 2009). Igualmente, Th003 aplicada sola y combinada en mezcla junto con Ps006 y Ps014, respectivamente, no presentó ventaja en el desarrollo de la planta crecida en suelo inoculado con *O. virulentus*. En etapas previas, se evaluó el efecto de promoción de crecimiento de *T. koningiopsis* Th003 en vitroplántulas de fique (etapa de endurecimiento), aplicado como conidios frescos en suelos libres de inóculo de *O. virulentus*, en las que se obtuvo como resultado el incremento en 28% del peso seco de la plántula y un aumento en la longitud radical y foliar del 7,1% y 26,2%, respectivamente, comparado con el testigo absoluto.

Los resultados sugieren que las rizobacterias aisladas fueron capaces de controlar la infección causada por *O. virulentus* en las plantas de fique. Basándose en los resultados, *P. fluorescens* Ps006 fue seleccionado para estudios posteriores. En la plantas de fique no se presentaron los síntomas típicos del virus de la macana. Sin embargo, cuando se evaluaron las raíces de las plantas, se observaron esporas de resistencia de *O. virulentus*. La ausencia de síntomas puede atribuirse a la ausencia de virus, al tiempo de latencia larga en el vector (esporas de resistencia) o a tiempos de larga incubación. La búsqueda de fuentes de control constituye una alternativa de gran importancia dentro del manejo del cultivo de fique.

**Control de *O. virulentus* en condiciones de campo:** Los primeros síntomas del virus de la macana en las plantas de fique aparecieron 260 ddt. Los síntomas más notorios se presentaron en la finca Los Arrayanes (Figura 7). Sin embargo, los valores promedio de incidencia de la enfermedad registrados a los 260 y 350 ddt fueron inferiores al 4%. Hubo mayor incidencia en el testigo absoluto (3,5%) con respecto al tratamiento con la mezcla de bioplaguicidas (*P. fluorescens* Ps006 + *T. koningiopsis* Th003 WP) de 1,6%, lo cual confirma el lento desarrollo en la expresión de los síntomas típicos del virus de la macana y un potencial de los microorganismos antagonistas aplicados.

Contrario a lo reportado por Pérez (1963), quien indica que la enfermedad de la macana afecta las plantas de fique desde los estados de bulbillo, hijuelo o planta trasplantada, la expresión de los síntomas de la macana se dio a 260 ddt. Dado que las cinco parcelas experimentales se ubicaron en zonas con alta incidencia de macana, el atraso en la aparición de los síntomas y el bajo valor de la incidencia de la macana pudo estar relacionado con el material vegetal sembrado, dado que consistió en plantas multiplicadas *in vitro* libres de virus.

Aunque pocos estudios en Colombia reportan la enfermedad de la macana como de origen viral (Gálvez *et al.*, 1977; Morales *et al.*, 1992), se desconocen los



**Figura 7.** Síntomas detectados del virus de la macana en plantas de fique en condiciones de cultivo. **A.** Planta sana; **B.** Planta con síntomas de macana; **C** y **D.** Síntomas de macana en el haz y el envés de las hojas.

mecanismos de transmisión de la enfermedad y los períodos de incubación y latencia del virus, ante lo cual es necesario adelantar estudios del mecanismo de transmisión de la enfermedad, bajo condiciones artificiales, y la caracterización molecular del virus.

Los microorganismos incluidos en los productos aplicados no indujeron un efecto promotor en el crecimiento vegetal de las plantas de fique. Durante los periodos evaluados (hasta 350 ddt), el número promedio de hojas (6) entre los tratamientos mantuvo un comportamiento similar. Sin embargo, en condiciones de semillero sí se logró un efecto relevante sobre el crecimiento de las plántulas (Rada, 2009; Rada *et al.*, 2009). Esto es coherente con lo reportado por varios autores, quienes han demostrado que el efecto promotor de crecimiento por rizobacterias se expresa principalmente en etapas tempranas de desarrollo vegetal y también hay mayor efecto bajo condiciones controladas, como en invernadero (Adesemoye y Kloepper, 2009; Adesemoye *et al.*, 2009; Krishna *et al.*, 2009).

En la zona del estudio se encontraron otras enfermedades en la planta de fique, como la antracnosis (*Colletotrichum agaves*), la pudrición negra basal de la hoja (*Leptosphaeria* spp.), el mal rosado (*Corticium salmonicolor*), la quemazón de las puntas de las hojas (*Verticillium* sp. y *Fusarium* sp.), la gotera (*Leptosphaeria* spp.), y la viruela, la viruela amarilla o verrugosis (de etiología posiblemente viral).

Teniendo en cuenta el nivel de daño de las enfermedades presentadas, es necesario efectuar estudios epidemiológicos en las principales zonas figueras del país.

Adicionalmente, es posible observar plantas de diferentes ecotipos de fique en diferentes municipios de Antioquia, Cundinamarca y Santander con síntomas típicos del virus de la macana y de otras enfermedades de tipo viral, por lo tanto presenta susceptibilidad a diferentes enfermedades. Se concluye que el seguimiento de los experimentos en campo relacionados con la macana se debe llevar a cabo durante mayor tiempo, con el fin de verificar el progreso en el desarrollo de síntomas típicos de la enfermedad. El potencial de aprovechamiento del cultivo del fique dependerá del desarrollo de investigaciones innovadoras que establezcan el real valor económico para los pequeños agricultores al optimizar su siembra y beneficio.

## Referencias bibliográficas

1. Adesemoye, A.O. & Kloepper, J.W. 2009. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 85. Pp. 1-12.
2. Adesemoye, A.O. Torbert, H.A. & Kloepper, J.W. 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*. 58. Pp. 921-929.

3. Alfaro-Fernández, A. Córdoba-Selles, M.C. Herrera-Vásquez, J.A. Cebrián, M.C. & Jordá, C. 2010. Transmission of Pepino Mosaic Virus by the fungal vector *Olpidium virulentus*. *Journal of Phytopathology*. 158. Pp. 217-226.
4. Bailey, B.A. Bae, H. Strem, M.D. Roberts, D.P. Thomas, S.E.; Crozier, J. Samuels, G.J. Choi, I.Y. & Holmes, K.A. 2006. Fungal and plant gene expression during the colonization of cacao seedlings by endophytic isolates of four *Trichoderma* species. *Planta*. 224. Pp. 1149-1164.
5. Bashan, Y. & de Bashan, L.E. 2005. Fresh-weight measurements of roots provide inaccurate estimates of the effects of plant growth-promoting bacteria on root growth: a critical amination. *Soil Biology and Biochemistry*. 37. Pp. 1795-1804.
6. Carlier, E. Rovera, M. Rossi, A. & Rosas, S. 2008. Improvement of growth, under field conditions, of wheat inoculated with *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *Aurantiaca* SR1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 24. Pp. 2653-2658.
7. Castaño, J.J. 1990. Observaciones sobre transmisión y manejo de la macana del fique (*Furcraea* spp.). *Fitopatología Colombiana*. 14. Pp. 24-28.
8. Cepero de García, M.C. Beltrán, C.R. & Cotes, A.M. 2006. Detección de *Olpidium brassicae* en raíces de fique (*Furcraea* sp.), como posible vector del virus de la raya necrótica del fique. En: *Estudios micológicos para determinar la posible presencia del hongo O. brassicae en muestras de suelo procedentes de la rizosfera de plantas infectadas y no infectadas con el virus de la macana*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica. Documento interno.
9. Gálvez, G. Castaño, M. Vesga, B. & Kitajima, W. 1977. Necrotic Streak Mosaic, a virus disease of cabuya (*Furcraea* spp.) in Colombia. *Plant Disease Reporter*. 61 (12). Pp. 1017-1021.
10. Gregory, P. 2006. *Plant roots growth, activity and interactions with soils*. Blackwell publishing. 318 p.
11. Kloepper, J.W. Lifshitz, R. & Zablutowicz, R.M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnology*. 7. Pp. 39-43.
12. Kumar, K.V.K. Raju, S.K. Reddy, M.S. Kloepper, J.W. Lawrence K.S. Groth, D.E. Miller, M.E. Sudini, H. & Du, B. 2009. Evaluation of commercially available PGPR for control of rice sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 3. Pp. 485-488.
13. MADR. 2006. *Guía ambiental del subsector fiquero*. Segunda edición. Bogotá, Colombia: Panamericana formas e impresos. 122 p.
14. Marra, R. Ambrosino, P. Carbone, V. Vinale, F. Woo, S.L. Ruocco, M. Ciliento, R. Lanzuise, S. Ferraioli, S. Soriente, I. Gigante, S. Turra, D. Fogliano, V. Scala, F. & Lorito, M. 2006. Study of the three-way interaction between *Trichoderma atroviride*, plant and fungal pathogens by using a proteomic approach. *Current Genetics*. 50. Pp. 307-321.
15. Morales, F. Castaño, M. Calvert, L. & Arroyave, J.A. 1992. *Furcraea* Necrotic Streak Virus: An apparent new member of the Dianthovirus group. *Journal Phytopathology*. 134. Pp. 247-254.
16. Osorio, D. 2010. *Identificación molecular de aislamientos nativos de Olpidium spp. como posible vector del virus de la raya necrótica o macana del fique (Furcraea spp.)*. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Programa de Ingeniería Agronómica. Universidad de Cundinamarca. Fusagasugá. Pp. 15-30.
17. Patten, Ch. & Bernard, G. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*. 68 (8). Pp. 3795 - 3801.
18. Pérez, J. 1963. *El fique, su taxonomía, cultivo y tecnología*. Editorial Colina. 127 p.

19. Rada, L. 2009. *Selección de Pseudomonas spp. aisladas de la rizósfera de fique (Furcraea sp.) por su potencial en la promoción de crecimiento de diferentes especies*. Trabajo de grado de microbiología industrial. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 122 p.
20. Rada, L. Sastoque, L. & Cotes, A.M. 2009. *Selección de Pseudomonas spp. aisladas de la rizósfera de fique (Furcraea sp.) por su potencial en la promoción del crecimiento de diferentes especies vegetales*. Memorias XXIX Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines, Ascolfi. Medellín, Colombia. Junio 2-4 de 2009.
21. Ruiz, J.C. 2011. *Caracterización de un principio activo a base de Pseudomonas fluorescens Ps006 y estudio de su compatibilidad con soportes sólidos*. Trabajo de grado de microbiología industrial. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 57 p.
22. Sette, L.D. Passarini, M. Delarmelina, C. Salati, F. & Duarte, M. 2006. Molecular characterization and antimicrobial activity of endophytic fungi from coffee plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 22. Pp. 1185-1195.
23. Varanda, C.M. Silva, M.S. Félix, M.R. & Clara, M.I. 2011. Evidence of olive mild mosaic virus transmission by *Olpidium brassicae*. *European Journal Plant Pathology*. 130. Pp. 165-172.
24. Woo, S.L. Scala, F. Ruocco, M. & Lorito, M. 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi and plants. *Phytopathology*. 96. Pp. 181-185.