

Control de *R. solani* en semilla de papa criolla con *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034)

Adriana Santos, Camilo Beltrán, Magda García,
Alba Marina Cotes, Laura Villamizar

Introducción

El cultivo de papa es de gran importancia socioeconómica en Colombia, sin embargo, el rendimiento promedio es de 17 Ton/ha, valor muy bajo en comparación con grandes productores como China, Rusia, India, Estados Unidos y Ucrania, que alcanzan rendimientos de 43,8 Ton/ha (Faostat, 2008). El bajo rendimiento en el país se debe en parte al escaso uso de semilla certificada y al bajo desarrollo tecnológico en el manejo del cultivo (Alvarado, 1998; Martínez *et al.*, 2003).

Tradicionalmente, el agricultor no le da importancia a la consecución de semilla de buena calidad para su cultivo, limitándose a dejar para la próxima siembra la papa de menor calidad o de menor precio en el mercado. Este hecho ha desatado pérdidas significativas en la producción y dispersión de problemas fitosanitarios en las zonas cultivadas (Alvarado, 1998).

La calidad de la semilla de papa es afectada por la presencia de fitopatógenos e insectos plaga. Entre los fitopatógenos más importantes en el cultivo de papa se destaca *R. solani*, hongo que afecta raíces, tallos y especialmente los tubérculos, causándoles deformaciones y grietas en la epidermis con pérdidas de rendimientos entre el 10 % y el 26 % (Guerrero, 1998; Díaz, 2002).

Hasta ahora, el agricultor ha tratado de controlar este problema fitosanitario con el uso de fungicidas químicos como Carboxin-Captan, Benomil y Carbendazim, con resultados totalmente insatisfactorios. Por tal razón, es necesario desarrollar nuevas alternativas que puedan integrarse en programas de manejo de la enfermedad. En este sentido, el control biológico con microorganismos antagonistas constituye una medida de control eficiente, con beneficios, en los costos de producción y en la reducción del impacto ambiental por uso de fungicidas químicos.

Considerando las ventajas que traería para el cultivo de papa la implementación de bioplaguicidas como alternativas de control de *R. solani* desde la fase de tratamiento de la semilla, CORPOICA desarrolló dos prototipos de bioplaguicida formulados como polvos para espolvoreo a base de *Trichoderma koningiopsis* y *T. asperellum* diseñados para este fin. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad biocontroladora de los dos productos en condiciones de almacenamiento de semilla y en condiciones *in planta*.

Metodología

Actividad biocontroladora en condiciones de almacenamiento de semilla

Los bioplaguicidas a base de *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034) se aplicaron sobre tubérculos semilla con presencia de esclerocios de *R. solani* en la epidermis, los cuales se almacenaron durante un tiempo determinado para luego ser sembrados.

Se utilizó semilla de papa criolla (*Solanum phureja*) variedad yema de huevo, infestada con esclerocios de *R. solani* (8-10 esclerocios/papa). Para la aplicación de los bioplaguicidas las papas fueron pesadas y colocadas en una bolsa de polietileno, en la cual se adicionó la dosis recomendada de producto (5g de producto/Kg de papa). Posteriormente, las bolsas fueron agitadas vigorosamente hasta que los tubérculos quedaron completamente cubiertos por el producto.

Los tubérculos tratados con los bioplaguicidas se ubicaron individualmente en recipientes plásticos de 16 onzas, los que fueron tapados y se mantuvieron en condiciones de oscuridad durante 15 días, simulando las condiciones utilizadas por el agricultor.

Transcurrido dicho tiempo se evaluó la incidencia y se determinó el porcentaje de eficacia en la reducción de la enfermedad utilizando la fórmula empleada por Elad (2000) $[(a-b)/a]*100$, donde (a) es la incidencia en el testigo patógeno y (b) es la incidencia en el tratamiento evaluado.

Se evaluó un testigo absoluto y los tratamientos correspondientes a los tubérculos semilla tratados con el bioplaguicida a base de *T. koningiopsis* (Th003) y el bioplaguicida a base de *T. asperellum* (Th034).

El bioensayo se realizó bajo un diseño completamente al azar, con cinco repeticiones por tratamiento. Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza ANAVA, y los promedios fueron comparados con la prueba de Tukey (95 %), empleando el programa Statistix versión 7.0.

Actividad biocontroladora en condiciones *in planta*

Se utilizaron recipientes plásticos de 16 onzas de capacidad con 300 g de suelo, el cual fue inoculado con 16 discos de agar colonizados con el aislamiento de *R. solani* (Rh200), seleccionado previamente por su alta patogenicidad (Santos, 2009).

Los tubérculos de papa se trataron con los bioplaguicidas –como se describió anteriormente– y a continuación se sembraron individualmente en los recipientes plásticos. Transcurridos 30 días después de la siembra, se evaluó la incidencia del patógeno y el peso seco de la planta (parte aérea y radicular) (Beltrán, 2004). La eficacia de los productos se determinó utilizando la fórmula descrita.

Se evaluaron cuatro tratamientos: testigo absoluto, testigo patógeno y los tratamientos correspondientes a los tubérculos semilla tratados con el bioplaguicida a base de *T. koningiopsis* (Th003) y el bioplaguicida a base de *T. asperellum* (Th034).

Este bioensayo se efectuó utilizando un diseño completamente al azar, con diez repeticiones por tratamiento. Los resultados fueron sometidos a un estudio de varianza ANAVA y los promedios fueron comparados con la prueba de Tukey (95 %), empleando el programa Statistix versión 7.0.

Resultados

Actividad biocontroladora de los bioplaguicidas en condiciones de almacenamiento de semilla

Los bioplaguicidas formulados como polvo para espolvoreo a base de *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034) redujeron la incidencia de *R. solani* en un 80 % en comparación con la semilla de papa no tratada, en donde la incidencia de la enfermedad fue del 100 % (Figura 6). La eficacia obtenida para los dos productos evaluados cumplió con el límite de aceptación de calidad biológica establecido por el Laboratorio de Control de Calidad de Bioplaguicidas Biotécnica (CORPOICA) para este tipo de productos, el cual corresponde a un valor ≥ 80 %.

En la evaluación cualitativa del estado de los tubérculos tratados con los bioplaguicidas a base de Th003 y Th034, se observó que algunos brotes resultaron afectados por *R. solani*. No obstante, en los tratamientos que incluían los hongos antagonistas se produjeron más brotes laterales o re-

brotos. También se observó que el desarrollo de la infección causada por el patógeno fue más lento y, en algunos casos, los brotes presentaron colonización superficial del micelio de *Rhizoctonia* pero no se evidenciaron lesiones sobre el tejido. Los brotes de todas las semillas de papa tratadas con los bioplaguicidas presentaron mayor vigor y grosor en términos de diámetro y longitud del brote y en el número de raíces en comparación con los brotes de la semilla sin tratar (Figura 7).

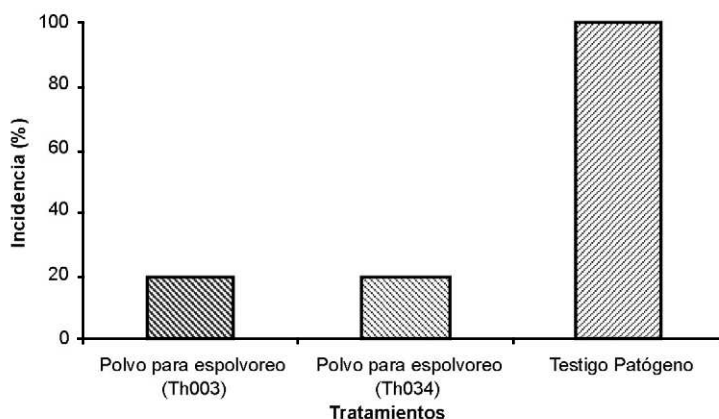


Figura 6. Efecto del tratamiento de semilla de papa con los bioplaguicidas a base de *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034) sobre la incidencia (%) de *Rhizoctonia solani*.



Figura 7. Efecto de las formulaciones a base de Th003 y Th034 sobre la brotación de semillas de papa después de 15 días de almacenamiento **a.** Semilla de papa no tratada (obsérvese la necrosis en los brotes y poco desarrollo de raíces). **b.** Semilla tratada con el bioplaguicida a base de *T. koningiopsis* (Th003) **c.** Semilla tratada con el bioplaguicida a base de *T. asperellum* (Th034) (obsérvese los brotes raíces de mayor longitud).

Resultados similares fueron descritos por Paris *et al.* (2003), quienes evaluaron el efecto del mismo aislamiento de *T. koningiopsis* sobre tubérculos de papa pastusa con inóculo natural de *R. solani*. Estos autores observaron que los tubérculos tratados con el agente biocontrolador presentaron brotes sanos y raíces de mayor desarrollo y vigor en comparación con los tubérculos no tratados.

En este sentido, se puede afirmar que en el presente estudio los dos aislamientos de *Trichoderma* tuvieron un efecto promotor del crecimiento vegetal, ya que el peso de los brotes de la semilla de papa tratada fue significativamente mayor (1,43 y 1,03 g para *T. koningiopsis* y *T. asperellum*, respectivamente) en comparación con los brotes de la semilla del tratamiento testigo (0,17 g) (Figura 8).

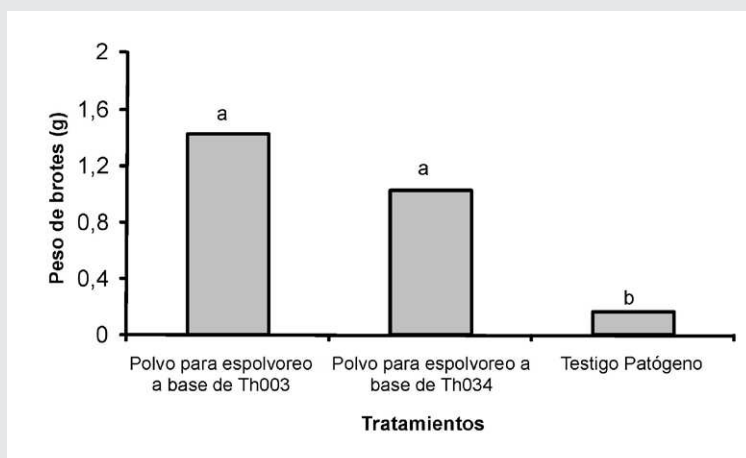


Figura 8. Efecto en el peso de brotes (g) de semilla de papa tratada y no tratada con los biofungicidas formulados como polvo para espolvoreo a base de *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034). Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas, según prueba de Tukey (95 %).

La acción positiva que ejerció *Trichoderma* spp. se concentró en la estimulación de la velocidad de crecimiento y en la expresión de los brotes laterales. Verma *et al.* (2007) sugirieron que *Trichoderma* spp. puede producir hormonas o metabolitos que aumentan la transferencia de minerales desde la rizósfera hasta las raíces de las plantas, lo que trae como consecuencia un aumento en la velocidad de crecimiento y, por

tanto, un aumento en la biomasa de la planta. En el caso particular de Th003, Moreno *et al.* (2009) demostraron que este hongo tiene la capacidad de estimular el crecimiento del tomate (*Solanum lycopersicum*), lo cual se explicó parcialmente por la estimulación de genes de crecimiento en la planta.

En el presente estudio se evidenció la presencia de otros microorganismos contaminantes, potencialmente fitopatógenos (*Fusarium* sp. o *Erwinia* sp.) del tubérculo. Sin embargo, la aplicación de los bioplaguicidas disminuyó su acción. Lo anterior posiblemente se debe a la actividad de *Trichoderma* spp. y a la disminución de la humedad en la superficie de la semilla por efecto de la formulación utilizada, la cual presenta una baja capacidad de retención de agua.

Estas deducciones indican que la aplicación de los bioplaguicidas formulados como polvos para espolvoreo brindan a la semilla de papa protección contra el fitopatógeno *R. solani* durante las condiciones de almacenamiento de la misma, dado que retardan y disminuyen tanto los síntomas como los signos de la enfermedad.

Evaluación de la actividad biocontroladora de los bioplaguicidas en condiciones *in planta*

La eficacia obtenida con el polvo para espolvoreo a base de *T. koningiopsis* (Th003) contra *R. solani* fue del 86 %, y con el producto a base de *T. asperellum* (Th034) del 71 % en comparación con el testigo patógeno, en el cual la incidencia de la enfermedad fue del 100 %.

En el presente estudio y en el trabajo de Beltrán (2004) se evidenció micoparasitismo de los aislamientos Th003 y Th034 de *Trichoderma* sp. sobre *R. solani*, efecto que fue descrito por Wilson *et al.* (2008). Así mismo, en la superficie del tubérculo se podrían sugerir mecanismos de competencia por espacio y por nutrientes, y desactivación de las enzimas de los fitopatógenos (Elad *et al.*, 2000; Harman *et al.*, 2004).

De igual manera, se comprobó la capacidad de los dos aislamientos de *Trichoderma* sp. para promover el crecimiento vegetal (Figura 9). El peso seco de las plantas de papa provenientes de la semilla tratada con el bioplaguicida a base de *T. koningiopsis* fue de 1,20 g y con el bioplaguicida a base de *T. asperellum* fue de 1,10 g, valores significativamente superiores ($P < 0,05$) al presentado por el testigo absoluto (0,66 g) y por el testigo patógeno (0,51 g). Se evidenció que la presencia de *Trichoderma* sp. en el sustrato de crecimiento incrementó el desarrollo de las plantas, especialmente del sistema radical y foliar (Figura 10).

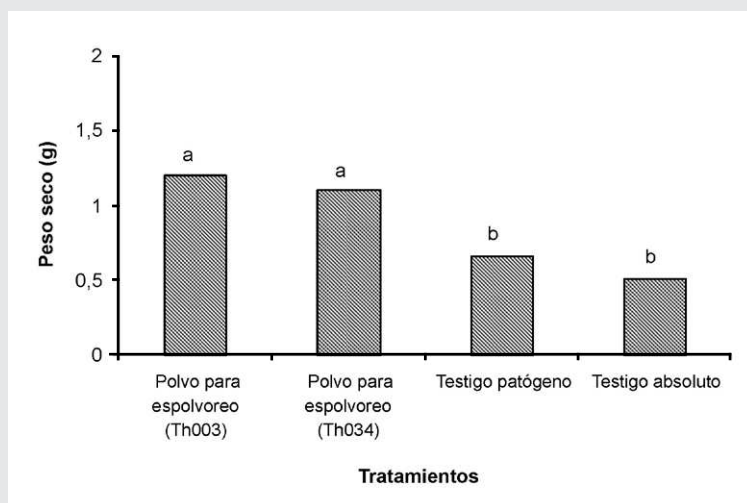


Figura 9. Efecto del tratamiento de semilla con formulaciones a base de *T. koningiopsis* (Th003) y *T. asperellum* (Th034) sobre el peso seco de las plantas evaluadas a los 30 días después de la siembra. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey (95 %).

Es importante resaltar que las plantas originadas de semilla tratada con los bioplaguicidas y sembradas en presencia del patógeno aunque presentaron lesiones en las raíces no mostraron necrosis total en el órgano afectado, a diferencia de las plantas del testigo patógeno, evidenciando una reducción de la severidad de la enfermedad causada por *R. solani*.

Vinale *et al.* (2008) establecieron que algunos aislamientos de *Trichoderma* spp. tienen la capacidad de producir compuestos que actúan como promotores y reguladores del crecimiento, entre los que se encuentran ácidos

orgánicos como el ácido glucónico, el ácido cítrico o el ácido fumárico, los cuales disminuyen el pH del suelo permitiendo la solubilización de fosfatos, minerales, micronutrientes y cationes como el hierro, el manganeso y el magnesio, útiles para el metabolismo vegetal. Sin embargo, estos fenómenos no han sido dilucidados en la interacción de Th003 y Th034 con las plantas.

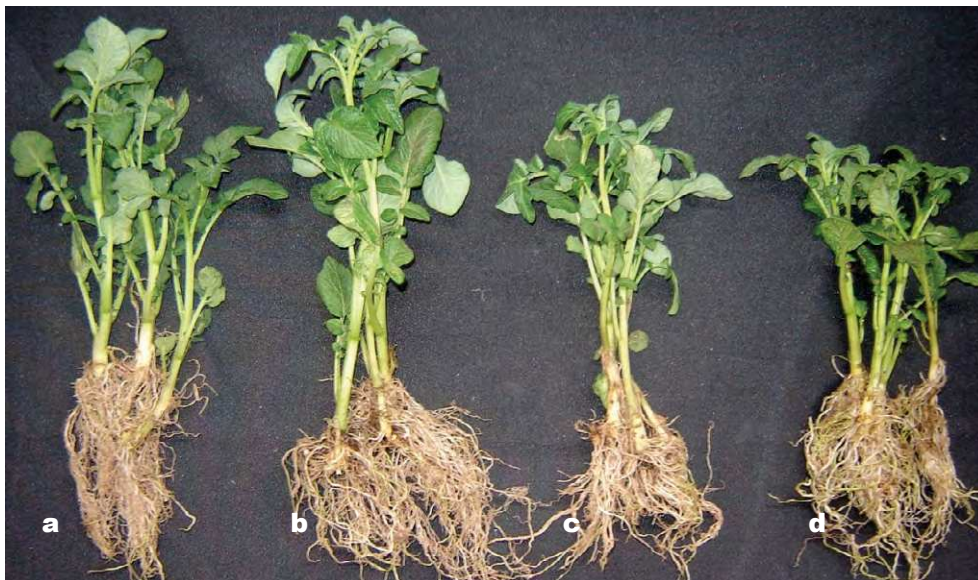


Figura 10. Efecto del tratamiento de tubérculos semilla con las formulaciones a base de Th003 y Th034 sobre el crecimiento de plantas de papa *S. phureja* **a.** Plantas tratadas con el bioplaguicida a base de *T. asperellum* (Th034). **b.** Plantas tratadas con el bioplaguicida a base de *T. koningiopsis* (Th003). **c.** Testigo absoluto. **d.** Testigo patógeno.

Conclusión

La aplicación de los bioplaguicidas a las semillas de papa, que posteriormente se sembraron en suelo inoculado con *R. solani*, ejerció un efecto protector frente al ataque del fitopatógeno, sugiriendo que los bioproductos aplicados a la semilla no solo protegen el tubérculo durante el almacenamiento sino que tienen un efecto positivo en condiciones de cultivo.

Bibliografía

- Alvarado, L. F. (1998). Producción y manejo de la semilla de papa. En: Manejo Integrado del Cultivo de Papa. Comité de sanidad de la papa, departamento de Nariño. pp. 32-42.
- Beltrán, C. (2004). Selección de aislamientos de *Trichoderma spp.* con potencial biocontrolador de *Rhizoctonia solani* Kühn en papa bajo condiciones de casa de malla. Trabajo de pregrado. Biología. Universidad Nacional de Colombia. pp. 52-56.
- Díaz, A. (2002). Evaluación del fungicida Tiabendazol para el control de *Rhizoctonia solani* Kühn en papa (*Solanum tuberosum*). Trabajo de pregrado. Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. pp. 24-32.
- Elad, Y. (2000). *Trichoderma harzianum* T39 Preparation for biocontrol of plant diseases- control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. *Biocontrol Science and Technology*. 10 (4): 499 – 507.
- FAOSTAT. (2008). Database online, www.faostat.fao.org. Fecha de consulta: 14 de enero de 2010
- Guerrero, O. (1998). Principales enfermedades de la papa causadas por hongos y bacterias transmitidas por semilla. En: Manejo sanitario del cultivo de papa. Comité de sanidad de la papa, departamento de Nariño. pp.10-35.
- Harman, G. E.; Howell, C. R.; Viterbo, A.; Chet, I.; Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2: 43–56.
- Martínez, H.; Barrios, C.; Acevedo, X. (2003). Características y estructura de la cadena de la papa en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Informe de Trabajo No. 3. <http://www.agrocadenas.gov.co>. Fecha de Consulta: 14 de enero de 2010.
- Moreno, C.A.; Castillo, F.; González, A.; Bernal, D.; Jaimes, Y.; Chaparro, M.; González, C.; Rodríguez, F.; Restrepo, S.; Cotes, A.M. (2009). Biological and molecular characterization of the response of tomato plants treated with *Trichoderma koningiopsis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 74: 111-120.
- Paris, A.; Beltrán, C.; Cotes, A.M. (2003). Informe Final. Proyecto: Selección de cepas de *Trichoderma spp.* con potencial biocontrolador de *Rhizoc-*

- tonia solani* en diferentes variedades de papa. Documento interno, CORPOICA.
- Santos, A. (2009). Caracterización de un prototipo de bioplaguicida a base de *Trichoderma koningiopsis* (Th003) y el granulovirus de *Phthorimaea operculella* para la protección de semilla de papa en almacenamiento. Tesis de Pregrado. Microbiología Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. pp. 236.
- Verma, M.; Brar, K.; Tyagi, R. D.; Surampalli, T. Y.; Valero, J. V. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*. 37: 1–20.
- Vinale, F.; Sivasithamparam, K.; Ghisalbertic, E.; Marra, R.; Woo, L.; Lorito, M. (2008). *Trichoderma* plant pathogen interactions. *Soil Biology & Biochemistry* 40: 1–10.
- Wilson, P. S.; Ketola, E. O.; Ahvenniemi, P. M.; Lehtonen, M. J.; Valkonen, J. (2008). Dynamics of soilborne *Rhizoctonia solani* in the presence of *Trichoderma harzianum*: effects on stem canker, black scurf and progeny tubers of potato. *Plant Pathology*. 57: 152–161.