

## **Control Biológico de *Rhizoctonia solani* Mediante Pregerminación Controlada de Semillas y el Agente Biocontrolador *Trichoderma koningii***

**A. M. Cotes, P. G. García, J. C. Hio, E. E. Ebrath, O. Y. Pérez.** Programa Nacional MIP – Corpoica. Centro de Investigación Tibaitatá. A.A. 240142 Las Palmas, Santafé de Bogotá, Colombia. E-mail: [cbiológico@corpoica.org.co](mailto:cbiológico@corpoica.org.co)

A pesar de ser el tomate una hortaliza con gran demanda para el consumo fresco y como producto procesado industrialmente, el cultivo ha mermado sus rendimientos elevados de años anteriores, a causa de las devastadoras consecuencias que traen los fenómenos climatológicos como los desbordamientos de los ríos, lo cual ocurre con frecuencia en zonas costeras del departamento del Atlántico o la erosión y pérdida de nutrientes de los suelos, que se ha reportado de manera gradual en zonas del departamento de Boyacá y Valle del Cauca principalmente (Ministerio de Agricultura, 1998).

Otro aspecto desfavorable para el cultivo del tomate, lo constituyen los insectos plaga y los fitopatógenos. Dentro de estos últimos los que más daño le ocasionan son *Rhizoctonia solani* que produce el volcamiento o Damping-off (Abawi & Pastor, 1990).

Se ha comprobado que este hongo patógeno tiene la capacidad de infectar las semillas aún antes de la germinación (Abawi & Pastor, 1990), además de afectar las plantas jóvenes en las que se manifiesta como un adelgazamiento en la zona basal del tallo, observándose una coloración marrón. Este adelgazamiento progresivamente avanza a lo largo del tallo, ocasionando un retardo en el crecimiento de la planta y posteriormente su muerte (Abawi & Pastor, 1990; Agrios, 1991 en Saldamando, 1996).

Dentro de los microorganismos antagonistas usados en el control de fitopatógenos tales como *Rhizoctonia solani* (Chet, Harman y Baker, 1981), sobresale el hongo *Trichoderma* spp. Sin embargo, a pesar de las ventajas ecológicas que presenta la utilización del control biológico, con frecuencia la aplicación de éste mediante la incorporación de microorganismos antagonistas al suelo, conlleva a resultados inconsistentes debido al efecto negativo que algunas condiciones ambientales ejercen sobre los microorganismos. Para obviar esta situación, varios autores han demostrado las ventajas que ofrece la combinación del control biológico con tratamientos fisiológicos de semillas tales como la pregerminación controlada. Esta técnica permite que las semillas embeban agua hasta completar varios procesos metabólicos sin que germinen, de tal forma que las semillas pueden ser secadas y almacenadas hasta el momento de su uso. Las semillas así tratadas han demostrado mayor velocidad de germinación, vigor y tolerancia a los fitopatógenos (Saldamando, 1996; Betancourth, 1997).

La técnica de pregerminación controlada de semillas puede llevarse a cabo sometiendo las semillas a una matriz líquida o sólida. En el primer caso, las semillas son colocadas en una solución osmótica aireada, de potencial hídrico conocido, bajo condiciones ambientales controladas. Sin embargo, la pregerminación de semillas en este tipo de soluciones osmóticas, requiere de grandes volúmenes de solución y estrictos controles de temperatura y aireación, lo cual hace del tratamiento una herramienta complicada y costosa si es usada a gran escala (Harman & Taylor, 1988 en Betancourth, 1997).

La pregerminación en matriz sólida se ha desarrollado como una alternativa a la utilización de soluciones osmóticas. En este procedimiento, las semillas son mezcladas con una matriz sólida fina como vermiculita, arena, carbón, cascarilla de arroz, etc., la cual es humedecida hasta alcanzar un cierto potencial hídrico para permitir la imbibición de las semillas. Las matrices utilizadas siempre son inertes para evitar la estimulación de cualquier proceso metabólico en la semilla. Las semillas se incuban durante un tiempo determinado, manteniendo la temperatura constante y evitando que la radícula emerja. Este sistema de pregerminación controlada de semillas en matriz sólida presenta dos ventajas con respecto al anterior sistema: es mucho más económico cuando se utiliza a gran escala y es ideal para ser integrado con agentes de control biológico, pues permite el desarrollo y la actividad de los hongos antagonistas (Harman y Taylor, 1988 en Betancourth, 1997).

La pregerminación controlada de semillas en presencia de agentes de control biológico ha sido una alternativa viable para el control de enfermedades causadas por fitopatógenos en diferentes cultivos. Este método requiere concentraciones de propágulos del biocontrolador mucho más bajas que las utilizadas en el suelo, (Harman & Taylor, 1988; Sivan & Chet, 1989). Este inóculo sobre la superficie de la semilla permite la multiplicación del bioprotectante protegiendo no solamente la semilla, sino también la raíz en un suelo infestado con los fitopatógenos radicales (Cotes, 1993).

## Objetivo

Evaluar el efecto de la pregerminación controlada de semillas en presencia de *Trichoderma koningii* en el control de *Rhizoctonia solani* en tomate.

## Materiales

### Material vegetal

El material vegetal que se utilizó fueron semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) de la variedad Chonto, tanto provenientes de un cultivo orgánico, como comerciales certificadas.

## Microorganismos y medios de cultivo

Como microorganismos biocontroladores, se emplearon una cepa de *Trichoderma koningii* procedente del cepario del Laboratorio de Control Biológico de CORPOICA (sede Tibaitatá). Este microorganismo fue seleccionado en ensayos previos por su alta actividad biocontroladora contra *Rhizoctonia solani* (Saldamando, 1996) y *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Betancourth, 1997).

El hongo *Trichoderma koningii*, se propagó siguiendo las metodologías estandarizadas en el Laboratorio de Control Biológico de Corpoica.

## Pregerminación controlada de semillas en presencia de *Trichoderma koningii*

La pregerminación controlada de semillas se hizo siguiendo los procedimientos estandarizados por Saldamando en 1996, para lo cual se utilizó una bandeja acrílica transparente de 10 cm de alto, 23 cm de ancho y 31 de largo con tapa. En ésta se colocaron 200g de cascarilla de arroz humedecida con 250ml de agua destilada estéril, que equivalía al 80 % de la capacidad de retención del sustrato.

Las semillas que iban a ser pregerminadas fueron previamente desinfectadas sumergiéndolas en una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante 5 min., y luego fueron lavadas con abundante agua destilada estéril durante 3 min por tres veces consecutivas. Posteriormente, fueron divididas en dos lotes y una parte de ellas fue sumergida en una suspensión de *Trichoderma koningii* que contenía  $10^7$  propágulos/ml durante 10 min. Esta suspensión fue hecha en Tween 80 al 0.1%. La otra parte del lote se sumergió en una solución de Tween 80 al 0.1% también durante 10 min. Al cabo de este tiempo, las semillas se dejaron secar con la corriente de aire estéril en una cámara de flujo laminar durante 15 min.; luego de realizado este procedimiento, se colocaron en bolsitas de tul de 6cm de largo por 7 cm de ancho unas 200 semillas aproximadamente y se cerraron con alambre de cobre número 2.

Una vez cerradas todas las bolsitas, las que no se iban a pregerminar se dejaron entre una bandeja acrílica vacía (sin sustrato) durante 48 horas y las que se iban a pregerminar fueron colocadas a 5 cm de profundidad en la matriz de cascarilla de arroz humedecida. Este procedimiento fue realizado en una cámara de flujo laminar donde las bandejas acrílicas se taparon y se colocaron en un lugar fresco y seco durante 48 horas. Después de transcurrido este tiempo, todas las bolsitas de tul que estaban en las bandejas acrílicas se sacaron, de éstas se tomaron las semillas y se procedió a sembrarlas en semilleros que fueron ubicados en el invernadero.

## Preparación de los Semilleros

### Preparación del suelo

El suelo utilizado como sustrato para sembrar las semillas provino del C.I Tibaitatá (Cundinamarca), se le hizo un análisis fisicoquímico en el laboratorio de Química de Suelos de Corpoica y fue mezclado en una proporción 1:1 con turba estéril. Tanto el suelo como la turba antes de ser mezclados fueron esterilizados a 120°C y 15 lb de presión durante 2 horas consecutivas.

### Siembra de semillas y plántulas

Para los ensayos de protección biológica se sembraron semillas pregerminadas, semillas pregerminadas en presencia de *Trichoderma koningii* y semillas comerciales (tratadas con vitavax)

Con el propósito de verificar el efecto biocontrolador de estos tratamientos tanto en condiciones de semillero como de transplante, las semillas sometidas a los diferentes tratamientos (pregerminación, pregerminación en presencia de *Trichoderma* sp. Y no pregerminadas) se dividieron en dos lotes, uno fue tratado con el patógeno *Rhizoctonia solani* y el otro no fue sometido a ningún tratamiento. En el primer caso, las semillas fueron sumergidas durante 10 minutos en una suspensión del patógeno que contenía  $1 \times 10^4$  propágulos/mL. El otro lote se sumergió en agua destilada estéril durante el mismo tiempo. Posteriormente, sobre una mesa limpia en el invernadero se colocaron los semilleros tipo bandeja con capacidad para 200 plantas cada uno y se llenaron con el suelo, luego se abrieron orificios en el suelo a una profundidad de 5mm. y se colocó una semilla por orificio. Estas semillas se cubrieron con el mismo suelo. Los semilleros se cubrieron a manera de bóveda con una tela negra llamada telasombra que tenía en la parte superior una tela de color blanco. Esta tela tenía los propósitos de evitar la fuerte incidencia de los rayos solares sobre el cultivo y de protegerlo de posibles predadores como ratones y pájaros. Los semilleros fueron humedecidos diariamente durante 30 días, las plantas obtenidas en estos fueron utilizadas para su transplante.

### Evaluación de resultados

Para llevar a cabo el análisis del efecto protector del biocontrolador utilizados en el experimento, se evalúan diariamente los efectos de volcamiento producidos por *R. solani* en los semilleros tratados con este patógeno expresados como incidencia. Los resultados se expresan como porcentaje de protección corregido, el cual se determina midiendo la cantidad de plantas vivas sin síntomas de enfermedad con respecto al total de las plantas del experimento. Este valor se obtiene para todos los tratamientos que involucraron el uso de la pregerminación y la utiliza-

ción del microorganismo *Trichoderma koningii* (juntos y por separado) y para un tratamiento sin pregerminación. Para calcular este valor, se recurrió a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de protección corregido} = \frac{T}{TS} \times \frac{PE - PAE}{PE} \times 100$$

En donde:

\* T: Es el número de plantas sembradas en el testigo absoluto.

\* TS: Es el número de plantas sanas en el testigo absoluto.

\* PE: Es el número de plantas enfermas con el patógeno en el testigo con patógeno (Plantas del tratamiento con semillas no pregerminadas y sembradas en presencia del patógeno).

\* PAE: Es el número de plantas enfermas (pregerminadas y/o tratadas con el antagonista) y sembradas en presencia del patógeno (en cada tratamiento).

## Bibliografía

- Abawi, G.; Pastor, M. 1990. Root Rots of Beans in Latin America and Africa: Diagnosis Research Methodologies, and Management Strategies. Ciat. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali - Colombia. P 112.
- Betancourth, J. C., 1997. Evaluación de una técnica de pregerminación controlada en matriz sólida en combinación con los agentes de control biológico *Trichoderma koningii* Oudemans y *Pseudomonas fluorescens* Migula, para el control del marchitamiento vascular del tomate *Lycopersicon esculentum* Mill., causado por el hongo *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *lycopersici*. Tesis de grado. Universidad de los Andes. P. 95.
- Ceballos, A., 1996. Como combatir las enfermedades del tomate. 7 edición. Editorial Limusa. México. P. 92.
- Chet, I.; Harman, G.; Baker, R. 1981. Isolation and Biocontrol Potencial of *Trichoderma hamatum* from Soil Naturally Suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 71: 286-290.
- Cotes, A.M., 1993. Study of common bean protection against damping-off by treatment of seeds with *Trichoderma koningii* Oudemans. (Ph.D. Thesis). En Tesis de Gembloux, Faculté des Sciences Agronomiques.
- Cotes, A.M., 1997. Seminario Internacional de Control Biológico de Fitopatógenos. Subdirección de Investigación Estratégica Programa Nacional de Manejo Integrado de Plagas. Corpoica-Tibaitatá. P. 110.
- Guzmán, J. 1991. El cultivo del tomate. 4 edición. Espasande editores. Santafé de Bogotá-Colombia.
- Ministerio de Agricultura. 1998. Departamento de censos y estadística.
- Saldamando, C. I., 1996. Control de *Rhizoctonia solani* kuhn en Tomate (*Lycopersicon esculentum*), mediante una combinación de tratamientos de pregerminación controlada y el agente de control biológico *Trichoderma koningii* Oudemans. Tesis de grado. Universidad de los Andes. P. 95.
- Sivan, A.; Chet, I. 1989. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology* 79: 198-203.