

Control Biológico de Fitopatógenos Práctica de Laboratorio y Campo

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.

Para el control de estos fitopatógenos se utilizan principalmente productos químicos, muchos de los cuales además de ser costosos desde el punto de vista económico, también lo son desde el punto de vista ambiental, pues permiten la aparición de fitopatógenos resistentes, inducen la aparición de nuevos patógenos, modifican las propiedades del suelo, alteran la biodiversidad, desequilibran el ecosistema, ya que destruyen las fuentes de agua que rodean subterráneamente a las plantas, haciendo que su hábitat esté cada vez más agotado y menos enriquecido para el normal desarrollo y crecimiento de las plantas. Además, como consecuencia aún más grave, producen daño sobre animales y hombres (Ceballos, 1996).

Cabe mencionar igualmente los efectos dañinos que causa para la salud de los consumidores la contaminación de las hortalizas tratadas con dichos productos químicos (Guzmán, 1991). De allí, que cualquier esfuerzo que conlleve al manejo sostenible de las enfermedades es de vital importancia. En ese sentido, el control biológico surge como una medida ecológica que toma en consideración la relación equilibrada entre el hombre y su medio ambiente (Guzmán, 1991).

El control biológico es considerado como una de las alternativas más deseables y factibles en el manejo de las plagas en agricultura, pues puede proveer un control adecuado de éstas dentro de los conceptos más recientes de la agricultura sostenible y como respuesta a la crisis ambiental que se vive en la actualidad (Cotes, 1997).

Evaluación de la Actividad Bicontroladora de un aislamiento de levadura contra *Rhizopus* sp. en frutos de tomate

Mundialmente las pérdidas causadas por microorganismos en la post-cosecha están alrededor de un 24 % (Wilson & Wisniewsky, 1989); en el caso del tomate, estas pérdidas pueden alcanzar hasta un 30 %. Tradicionalmente el control químico es una de las primeras medidas de control de enfermedades en la post-cosecha del tomate; sin embargo, la utilización de estos productos está siendo cuestionada debido a los problemas de residualidad que dejan sobre los alimentos cosechados, comprometiendo la salud humana. Esta situación ha estimulado la búsqueda de alternativas más sostenibles para el control de patógenos en postcosecha, tales como el control biológico. En este sistema se emplean microorganismos antagonistas tales como mohos, bacterias y

levaduras, sin embargo, sobresalen las levaduras, ya que estos microorganismos excepto en casos aislados, no son patógenos humanos o animales, además al utilizarlas en control biológico no producen antibióticos ni metabolitos secundarios, son fáciles de cultivar, pueden desarrollarse a bajas temperaturas y su uso puede ser combinado con algunos tratamientos físicos y químicos. Estas características han hecho que se hayan podido seleccionar algunas cepas que en la actualidad están siendo utilizadas con éxito a gran escala (Jijakli, 1996).

Objetivo

Evaluar el efecto bicontrolador de una levadura contra el patógeno *Rhizopus* sp. en tomate a temperatura ambiente.

Materiales

Material biológico:

- Para cada grupo se utilizarán 5 tomates de la variedad "Milano", en estado de madurez fisiológica.

Microorganismos:

- Una cepa de levadura biocontroladora.
- Una cepa del hongo fitopatógeno *Rhizopus* sp. causante de la pudrición blanda en tomate.

Tanto la cepa del biocontrolador como del fitopatógeno, proceden del banco de germoplasma de microorganismos de Corpoica.

Material para inoculación:

- Cámara de flujo laminar.
- Cámara de Neubauer.
- Micropipeta de 1000 μ l.
- Micropipeta de 100 μ l.
- Sacabocados de 6mm de diámetro.
- Vortex.

Otros materiales:

- Agua destilada estéril.
- Alcohol al 70%.

- Asa bacteriológica.
- Bandejas de aluminio.
- Calibrador.
- Guantes y tapabocas.
- Mechero.
- Vinipel.

Diseño experimental

Para el presente Bioensayo se propone un diseño completamente aleatorizado, con tres tratamientos y cinco repeticiones, siendo la unidad experimental un fruto de tomate. Para un total de 15 unidades experimentales.

Tratamientos:

- T1. Inoculado con la levadura y *Rhizopus* sp.
- T2. Inoculado con el hongo fitopatógeno *Rhizopus* sp.
- T3. Inoculado con la levadura.

Primera Parte

Para la inoculación de la levadura antagonista sobre heridas en tomate, se seguirá según el método propuesto por Roberts en 1990.

1. Con un sacabocados de 6mm de diámetro, realizar dos heridas (6mm diámetro por 3mm de profundidad), en la parte media de los frutos de tomate.
2. Tomar una bandeja de aluminio esterilizada previamente y verter agua destilada-estéril hasta humedecer la toalla absorbente que se encuentra en la base de ésta.
3. Inocular cada herida con 25µl de una suspensión de la levadura en agua peptonada al 0.1%, ajustada a una concentración de 1×10^8 células / ml., preparada previamente.
4. Una vez inoculados los tomates en el interior de cada bandeja, tapar cada una con vinipel durante una hora.

Segunda Parte.

Inoculación de *Rhizopus* sp. en frutos de tomate

Al igual que el caso anterior, la inoculación del patógeno se realizará de acuerdo con el método de Roberts (1990).

1. Retirar parcialmente el vinipel de las bandejas e inocular en cada herida de los tomates, 25µl de una suspensión de *Rhizopus* sp. a una concentración de 1×10^3 esporangiosporas / ml en Tween 80 al 0.1%, preparada previamente.
2. Tapar nuevamente las bandejas y almacenarlas a temperatura ambiente.

Toma de Resultados

Realizar la evaluación de los síntomas y signos de la enfermedad a los cuatro días, midiendo con un calibrador los diámetros de las lesiones producidas por *Rhizopus* sp. en el testigo patógeno y comparándolos con los obtenidos el tratamiento (levadura mas patógeno) y testigo levadura. Realizar un promedio de las medias para el tratamiento y los testigos, posteriormente realizar un análisis de varianza a partir de las medias obtenidas y un análisis de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Realizar el cálculo del porcentaje de protección, mediante la fórmula propuesta por Jijakli, 1996.

$$D_T - D_x / D_x = Y \%$$

Donde Y % es el porcentaje de protección.

D_T es el promedio de los diámetros del testigo patógeno.

D_x es el promedio de los diámetros obtenidos a partir del tratamiento (levadura + patógeno).

Bibliografía

- Wilson, C. L.; Wisniewski, M. E. 1989. Biological control of postharvest disease of fruits and vegetables: an emerging technology. *Annu. Rev. Phytopathol.* 27: 425-441. --
- Jijakli, M. H. 1996. Etude des proprietes antagonistes de duex souches de levures vis-a-vis de *Botrytis cinerea* Pers. sur pommes en conservation. Gembloux. 35-40.
- Roberts, R. G. 1990. Postharvest biological control of gray mold of apple by *Cryptococcus laurentii*. *Phytopathology.* 80: 526-530.

Literatura relacionada con el tema

- Ceballos, A. 1996. Cómo combatir las enfermedades del tomate. 7 edición. Editorial Limusa. México. p 92.
- 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.
- Jiménez, Y.; Neisa, A. 1999. Evaluación de la actividad antagónica de levaduras en el control de la podredumbre gris del cuello de la cebolla de bulbo producida por *Botrytis allii* en postcosecha. Trabajo de grado para optar al título de Ingenieros Agrónomos. Universidad Tecnológica y Pedagógica de Colombia. Tunja. Colombia.
- Wilson, C. L., Ghaouth, A. E., Chalutz, E., Droby, S., Stevens, C., Lu, J. Y., Khan, V., and Arul, J. 1994. Potential of induced resistance to control postharvest disease of fruit and vegetables. *Plant Disease* 78: 837-844.
- Wilson, C. L.; Wisniewski, M. E. 1994. Prefase. In: Biological Control of post-harvest disease theory and practice. Wilson, C. L. & Wisniewski, M. E., eds. CRC Press, USA.
- Wisniewski, M. E. and Wilson, C. L. 1992. Biological control of postharvest disease of fruits and vegetables: Recent advances. *HortScience* 27: 94-98.
- Wisniewski, M.; Droby, S.; Chalutz, E.; Eilam, Y. 1995. Effects of Ca²⁺ and Mg²⁺ on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* in vitro and on the biocontrol activity of *Candida oleophila*. *Plant Pathology*. 44: 1016-1024.
- Wisniewski, M.; Wilson, C.; Hershberger, W. 1989. Characterization of inhibition of *Rhizopus stolonifer* germination and growth by *Enterobacter cloacae*. *Can. J. Bot.* 67: 2317-2322.