



# ALAP '08

**XXIII Congreso de la  
Asociación  
Latinoamericana  
de la papa**

**VI Seminario  
Latinoamericano  
de Uso y Comercialización de la Papa**

## **MEMORIAS**

30 de noviembre al 6 de diciembre  
Mar del Plata, Argentina

## CARACTERIZACIÓN DE UN PROTOTIPO DE BIOPLAGUICIDA MIXTO PARA LA PROTECCIÓN DE SEMILLA DE PAPA EN ALMACENAMIENTO

Santos A, Villamizar L, García M, Beltrán C, Cotes A

Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB) de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Corpoica, Km 14 vía Mosquera, Bogotá Colombia

### INTRODUCCIÓN

Dentro de los problemas fitosanitarios que presenta la semilla de papa en almacenamiento, se encuentran el insecto plaga *Tecia solanivora*, que ocasiona pérdidas entre el 50 y el 100% y el hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani* que afecta los brotes, las raíces y los tallos, reduciendo los rendimientos hasta en un 50%. El manejo químico de estos dos problemas incluye el uso de productos de alta toxicidad y baja eficiencia (Villamizar *et al.*, 2005). Con el propósito de ofrecer una alternativa ecológica para el manejo de estos problemas, el Laboratorio de Control Biológico del CBB de Corpoica, diseñó un bioplaguicida mixto a base de conidios de *Trichoderma koningiopsis* (Th003) y un granulovirus nativo aislado de *Tecia solanivora* VG003. El bioplaguicida mixto es un polvo para espolvoreo, que presenta como ventaja, una posible doble acción para el control de los dos problemas fitosanitarios. Para continuar con el desarrollo del producto, surgió la necesidad de realizar su caracterización, con miras a determinar parámetros susceptibles de ser mejoradas durante la etapa de optimización, para obtener un producto seguro, confiable y eficaz.

### MATERIALES Y MÉTODOS

La caracterización microbiológica y fisicoquímica se realizó siguiendo los Procedimientos Operativos Estandars (POE's) del Laboratorio de Control de Calidad de Bioplaguicidas-Biotécnica de Corpoica, registrado ante el Instituto Colombiano Agropecuario ICA.

**Caracterización Microbiológica.** La pureza el prototipo de bioplaguicida mixto se determinó mediante la técnica de recuento en placa de contaminantes (hongos y bacterias), expresando el resultado como Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por gramo de producto. La concentración del principio activo *T. koningiopsis* fue cuantificada mediante la técnica de recuento en cámara de Neubauer y su concentración se expresó como conidios/g, igualmente se determinó su viabilidad evaluando el porcentaje de germinación a las 24 horas de incubación.

**Caracterización Fisicoquímica.** Las características fisicoquímicas evaluadas fueron voluminosidad, porosidad, fluidez estática, tamaño de partícula, humedad y pH. Cada característica se determinó por triplicado y se comparó con los rangos de aceptación establecidos por el Laboratorio Biotécnica.

**Prueba de Eficacia *in planta*.** La actividad del bioplaguicida mixto frente a *R. solani* (Rh200) en condiciones controladas de invernadero, se evaluó sembrando el tubérculo- semilla previamente tratado con el producto, en materas que contenían suelo inoculado con 16 discos de agar colonizados por Rh200. Además del tratamiento con el bioplaguicida, se contó con un testigo patógeno en el que no se aplicó el producto. Transcurridos 30 días se determinó la incidencia del fitopatógeno en las plántulas y se determinó el porcentaje de eficacia mediante la fórmula de eficacia  $((b-a)/b) \times 100$ ; donde (b) es incidencia del patógeno en el testigo patógeno y a: es la incidencia del patógeno en el tratamiento del bioplaguicida.

**Prueba de Eficacia en condiciones de almacenamiento frente a *R. solani*.** La semilla de papa utilizada, presentaba un rango de esclerocios de *R. solani* entre 8-10 por papa. Esta semilla fue tratada con el bioplaguicida mixto a la dosis recomendada (2,5g/Kg de papa) y ubicada individualmente en recipientes plásticos de 16 onzas, los cuales fueron tapados y mantenidos en condiciones de oscuridad. Después de 15 días, se evaluó la presencia del patógeno y se determinó el porcentaje de eficacia mediante la fórmula anteriormente descrita.

**Prueba de Eficacia en condiciones de almacenamiento frente a *T. solanivora*.** Se utilizaron tubérculos de papa, los cuales fueron tratados con el prototipo de bioplaguicida. Sobre cada tubérculo se colocaron 10 larvas neonatas de *T. solanivora*. El experimento contó con un testigo absoluto en el que los tubérculos no fueron tratados. Transcurridos 30 días se realizó un muestreo destructivo y se

contó el número de larvas muertas y vivas determinando el porcentaje de eficacia utilizando la fórmula de Schneider – Orelly (Zar, 1999).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Caracterización Microbiológica.** El prototipo de bioplaguicida mixto presentó una concentración de  $10^6$  partículas virales/g, la cual corresponde a la  $CL_{90}$  del aislamiento VG003. La concentración de *T. koningiopsis* fue de  $4,1 \times 10^8$  conidios/g. El hongo presentó una germinación de 96% a las 24 horas de incubación, valor que se encuentra dentro de los estándares nacionales de calidad que rigen este tipo de bioplaguicidas, que sugieren una viabilidad superior al 85% utilizando el método directo de recuento de esporas germinadas y no germinadas (Cenicafé, 1997). El contenido de contaminantes fue  $4,0 \times 10^3$  UFC/g, valor inferior al límite establecido por el Laboratorio Biotécnica ( $10^6$  UFC/g), para asegurar la estabilidad del producto bajo condiciones de almacenamiento.

**Caracterización Físicoquímica.** El bioplaguicida mixto presentó una voluminosidad de 1,53 mL/g, una porosidad 39,99%, un ángulo de reposo de 43.82°, un tamaño de partícula inferior a 150  $\mu$ m, una humedad del 0,52%, y un pH de 9,21. Todas estas características cumplieron con los parámetros de calidad establecidas por el Laboratorio de Control de Calidad de Bioplaguicidas Biotécnica para un bioplaguicida a base de Baculovirus registrado comercialmente. De acuerdo con lo anterior, el bioplaguicida mixto no presentará problemas de manipulación, especialmente en los procesos de manufactura y empaque. La baja humedad asegura la estabilidad de los principios activos y elimina el riesgo de incremento en el contenido de contaminantes.

**Prueba de Eficacia in planta.** La eficacia obtenida contra *R. solani* con el bioplaguicida fue del 85,72% y las plantas provenientes de semilla tratada, presentaron mayor peso seco de la parte aérea y radicular y una disminución del 80% en la incidencia del patógeno. Estos resultados posiblemente se deben a la habilidad de algunos aislamientos de *Trichoderma* sp. para incrementar la tasa de crecimiento, especialmente del sistema radicular y a su papel como biocontrolador, con mecanismos que involucran la competencia (por espacio y nutrientes), el micoparasitismo, la antibiosis y la desactivación de las enzimas de los patógenos (Harman *et al.*, 2004).

**Prueba de Eficacia en condiciones de almacenamiento contra *R. solani*.** El bioplaguicida mixto presentó una eficacia del 80%. Además, la semilla de papa tratada presentó mayor brotación y disminución de la incidencia del fitopatógeno comparada con la semilla de papa no tratada. Resultados similares a los obtenidos por Paris *et al.*, 2003, quien evaluó el efecto del mismo aislamiento de *T. koningiopsis* sobre tubérculos de papa con inóculo natural de *R. solani*, observando que los tubérculos tratados, presentaron brotes sanos y raíces de mayor desarrollo y vigor en comparación con los tubérculos no tratados con el agente biocontrolador.

**Prueba de Eficacia en condiciones de almacenamiento contra *T. solanivora*.** En la evaluación de la eficacia del bioplaguicida mixto para el control de *T. solanivora*, se obtuvo una eficacia del 90%, resultado que se encuentra dentro de los límites establecidos por Villamizar *et al.*, 2005 para el bioplaguicida Baculovirus Corpoica registrado comercialmente (>80%), valores que demuestran que el producto es eficiente para el control de la plaga.

Los resultados obtenidos permiten concluir que el prototipo de bioplaguicida mixto evaluado en el presente estudio, además de cumplir con las especificaciones microbiológicas y físicoquímicas, es eficiente para el control de *R. solani* y *T. solanivora* en condiciones de almacenamiento y el control de *R. solani* en condiciones de invernadero (*in planta*).

## REFERENCIAS

- CENICAFÉ. 1997. Técnicas para el Control de Calidad de Formulaciones de Hongos Etomopatógenos. Centro Nacional de Investigaciones de Café. Chinchina. Caldas. Colombia. 1-31.
- HARMAN, G.E., HOWELL, C.R., VITERBO, A., CHET, I., Y LORITO, M. 2004. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology 2: 43-56.
- PARIS, M., COTES, A., BELTRÁN, C. 2003. Selección de una cepa de *Trichoderma* sp. con actividad biocontroladora de *R. solani* en tubérculos de papa. Memorias XXIV Congreso Ascolfi.
- VILLAMIZAR, L., ZEDDAM, J., ESPINEL, C., COTES, A. 2005. Implementación de técnicas de control de calidad para la producción de un bioplaguicida a base del granulovirus de *Phthorimaea operculella* *PhopGV*. Revista Colombiana de Entomología. 31(2):127-132.
- ZAR, J. 1999. Biostatistical analysis. Cuarta Edición. Prentice Hall. New Jersey. Pág 663.