Corpoica
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria

Universidad Militar Nueva Granada

Pontificia Universidad Javeriana
Bogotá

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural

Asohofrucol
Asociación Hortifruticola de Colombia
Administradora del Fondo Nacional de Fomento Hortifruticola

AVANCES EN EL MANEJO Y CONTROL DE *Fusarium oxysporum* EN EL CULTIVO DE UCHUVA (*Physalis peruviana*)

Bogotá. 2012

Diaz, A.; Smith, A.; Zapata, J.; Mesa, P. / Avances en el manejo y control de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de uchuva (*Physalis peruviana*). Bogotá : Corpoica, 2012. 24p.

Palabras clave: UCHUVA, *PHYSALIS PERUVIANA*, CONTROL DE PLAGAS, CONTROL DE ENFERMEDADES, CONTROL BIOLÓGICO, *FUSARIUM OXYSPORUM*.

La presente publicación ha sido elaborada con la cofinanciación del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural –MADR– y la Asociación Hortifrutícola de Colombia –Asohofrucol–. El contenido de la misma es responsabilidad exclusiva de los investigadores y en ningún caso debe considerarse que refleja los puntos de vista del MADR o Asohofrucol.

LÍDERES DEL PROYECTO:

Pedro Jiménez, Ph. D., Alba Marina Cotes, Ph. D.,
María Ximena Rodríguez, Ph. D.

EQUIPO TÉCNICO:

Investigadores

Andrés Díaz, M. Sc., Jimmy Zapata, PU,
Alex Smith, PU, Paula Mesa, PU

Editor

Andrés Díaz G.

© Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica
CI.Tibaitatá – Laboratorio de Control Biológico, CBB

ISBN: 978-958-740-091-5
CA: 1675
CUI: 1343
Primera edición: Mayo de 2012
Tiraje: 450 ejemplares

Línea de atención al cliente: 018000121515
atencionalcliente@corpoica.org.co
www.corpoica.org.co

Producción editorial:
Diagramación, impresión y encuadernación

www.produmedios.org

Diseño gráfico:

Impreso en Colombia
Printed in Colombia

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y a la Asociación Hortifrutícola de Colombia, Asohofrucol, por su apoyo financiero para la realización de la presente publicación.

Contenido

Importancia del cultivo de uchuva en Colombia: Estado actual	7
Reconocimiento de las enfermedades y plagas en el cultivo de uchuva	9
Métodos de control de plagas y enfermedades	13
Nuevas alternativas de control: Control biológico y sus beneficios	16
Laboratorio de Control Biológico: Misión	18
Desarrollo de bioplaguicidas para el control de *F. oxysporum*	19
Perspectivas	23

Importancia del cultivo de uchuva en Colombia: Estado actual

Jimmy Alexander Zapata
Investigador Laboratorio de Control Biológico
Centro de Biotecnología y Bioindustria – CBB
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica.
E-mail: jzapatan@corpoica.org.co

La uchuva (*Physalis peruviana*) es una planta perenne, herbácea, que crece silvestre o semisilvestre. Se propaga normalmente por semilla; sus flores son solitarias y hermafroditas, fácilmente polinizadas por insectos, el viento o autopolinización. El fruto es una baya globosa u ovoide y jugosa, con un diámetro entre 1.25 y 2.15 cm y un peso entre 4 a 10 gramos, con una estructura interna similar a la de un tomate. La baya varía de color amarillo a ocre o amarillo naranja cuando madura; su piel es delgada y lustrosa y está recubierta con un cáliz o capacho (Figura 1).

El cultivo de la uchuva presenta buen comportamiento en las regiones que se ubican entre 1800 y 2800 metros sobre el nivel del mar, con alta luminosidad, temperaturas promedio entre 13 y 18 grados centígrados, precipitación anual de entre 1000 y 2000 milímetros y humedad relativa de 70 a 80 por ciento, preferiblemente en suelos con una estructura granular y una textura areno – arcillosa, que contengan altos contenidos de materia orgánica y un pH entre 5.5 y 6.8.

Aunque no se conocen variedades definidas de la especie *P. peruviana*, sí se conocen varios ecotipos, cultivándose básicamente tres: Kenia, Sudáfrica y Colombia, de donde han tomado sus nombres; estos se diferencian por el color y el tamaño del fruto, por la forma del cáliz y por el peso de los frutos cuando maduran.

Figura 1. Planta, flor y fruto de uchuva

Colombia es el primer productor mundial de uchuva y esta se ha convertido en la principal fruta de exportación del país en la categoría de promisorios diferentes de las tradicionales como banano y plátano. En el 2008, las ventas de uchuva en fresco a Europa y Estados Unidos sumaron US$ 24.2 millones y 14900 toneladas de producto.

Según los registros más recientes (2008), el área sembrada en Colombia con esta fruta es de 841 hectáreas, con una producción de 15463 toneladas y un rendimiento promedio de 18 toneladas/año, siendo en su orden Boyacá, Antioquia y Cundinamarca los principales departamentos productores de esta fruta. La uchuva es cultivada en lotes promedio entre 0.63 ha y 0.86 ha, indicando que su producción es esencialmente de economía campesina.

A pesar del crecimiento que ha presentado el cultivo de uchuva en los últimos años, su producción se ha visto limitada por diferentes problemas fitosanitarios, entre los que se cuentan plagas (perforadores, áfidos) y enfermedades. Dentro de las enfermedades más importantes de este cultivo se encuentra la mancha gris de las hojas y el cáliz, producida por el hongo *Cercospora physalidis* y la muerte descendente causada por el hongo *Phoma* sp.

Sin embargo, actualmente la enfermedad más limitante y la que mayor impacto económico y productivo ha causado en el cultivo de la uchuva es el marchitamiento vascular causado por el hongo *Fusarium oxysporum*. Este patógeno penetra por la raíz, obstruye y degrada los haces vasculares generando una coloración marrón tanto en raíz como tallo. Como resultado de la infección se presentan síntomas como clorosis, pérdida de turgencia (encopamiento de hojas) y poco desarrollo de los frutos; por último, se produce la muerte de la planta (Figura 2).

Figura 2. Signos y síntomas del marchitamiento vascular en plantas de uchuva. A. Planta marchita, B. Necrosis en el cuello de la raíz, C. Taponamiento vascular evidenciado por la colonización del xilema por estructuras de *Fusarium oxysporum*.

El impacto de esta enfermedad causó que el departamento de Cundinamarca pasara de ser el primer productor nacional de esta fruta en 2007 al tercer lugar detrás de Boyacá y Antioquia en 2008, con una reducción superior al 60% en el área sembrada.

Desafortunadamente no existen productos químicos para el control de *F. oxysporum*, ya que ha desarrollado resistencia a muchos de los ingredientes activos y tiene una persistencia muy elevada en el suelo. Por lo tanto, es muy importante el desarrollo de una estrategia ambientalmente sostenible basada en el uso de bioproductos para el control de esta enfermedad, principalmente en áreas de Cundinamarca y Boyacá que presentan registros previos de incidencia de *F. oxysporum*.

Reconocimiento de las enfermedades y plagas en el cultivo de uchuva

Alexander Smith
Investigador Laboratorio de Control Biológico
Centro de Biotecnología y Bioindustria – CBB
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica.
E-mail: asmith@corpoica.org.co

A pesar de que la planta de uchuva posee defensas fisiológicas como vellosidades en las hojas y el cáliz que cubre el fruto, la planta es afectada por múltiples enfermedades y plagas. Las enfermedades son causadas principalmente por bacterias y hongos, y afectan la planta desde semillero, manifestándose posteriormente en el cultivo y en la poscosecha. Así mismo, es a nivel de campo donde se presentan los ataques debidos a los insectos plaga.

En semillero, es usual la presencia del denominado mal de semilleros o volcamiento originado por *Entyloma australe, Fusarium oxysporum*, *Phytium* spp., *Rhizoctonia* spp., o por el complejo de dos o más de estos hongos.

En campo, las enfermedades comunes por hongos son: Carbón de la hoja (*E. australe*), mancha gris (*Cercospora* sp.), mancha negra de las hojas (*Alternaria* sp.), moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*), muerte descendente o mal de tierra (*Phoma* sp.), moho gris (*Botrytis* sp.) y el marchitamiento vascular (*F. oxysporum*). De estas, el marchitamiento vascular actualmente es el problema más limitante para el cultivo de uchuva debido a que no existe un producto químico para su control. Las enfermedades por bacterias son: Mancha grasienta (*Xanthomonas* sp.) y la dormidera o marchitez bacterial (*Ralstonia solanacearum*).

Durante la poscosecha, los hongos *Cladosporium* sp. y *Alternaria* sp. pueden producir el secamiento descendente del cáliz.

Las plagas asociadas al cultivo son: Áfidos o pulgones (*Aphis* sp.), babosas, complejo de ácaros o arañitas (*Aculops lycopersici*, *Phylonemus pallidus*, *Tarsonemus selifer*, *Xenolarsonemus* sp., *Czenspinskia tranversostriata* y *Tetranychus urticae*), mosca blanca o palomilla (*Trialeurodes vaporariorum*), nematodos (*Meloidogyne* spp.), perforador del fruto (*Heliothis subflexa*) y pulguilla (*Epitrix* sp.).

Aunque en campo también se presentan otros problemas de origen desconocido como el ojo de gallo, el virus del mosaico de la uchuva, la escoba de bruja y la hoja morada, estos no son limitantes.

A continuación se ofrece una breve descripción de las principales plagas y enfermedades del cultivo de uchuva.

Mal de semilleros: Es conocido también como sancocho, chamusquina o *damping-off*. En el tallo de la plántula aparece una mancha acuosa y ligeramente ennegrecida, la cual se extiende originando un adelgazamiento del tallo de la plántula, pérdida de firmeza y volcamiento de la plántula. La enfermedad es causada principalmente por *Pythium* sp., aunque *E. australe*, *Rhizoctonia* sp. y *F. oxysporum* producen los mismos síntomas.

Mancha gris: Se presenta como manchas redondas de color verde claro sobre las hojas y el cáliz. Después de un tiempo las manchas cambian a color marrón claro, con aspecto seco y quebradizo, rodeada de un borde amarillo. Debajo de la hoja en la lesión se puede observar el crecimiento del hongo con aspecto grisáceo. Las infecciones severas ocasionan la defoliación y pérdida de los frutos. La enfermedad es causada por *Cercospora* sp. (Figura 3).

Figura 3. Síntomas de la mancha gris. A: Manchas en hojas; B y C: Manchas en frutos

Marchitamiento vascular: Es usual que esta enfermedad se presente a partir de los tres meses de edad del cultivo. Los síntomas aparecen como amarillamiento, marchitamiento, secamiento lateral y, después de un tiempo que varía entre 1 y 3 meses, se presenta la muerte de la planta. Esta enfermedad se origina por el crecimiento del hongo *F. oxysporum* en el interior del tallo de la planta, lo que conlleva a la formación de un color marrón oscuro ascendente desde la base. Desde el 2005 la enfermedad ha originado grandes pérdidas, superiores al 50% en un cultivo (Figura 4).

Figura 4. Síntomas de marchitamiento vascular. A: Corte longitudinal en tallo de uchuva sano; B: Corte longitudinal en tallo de uchuva con necrosis ascendente; C: Marchitamiento en plantas de uchuva.

Muerte descendente o mal de tierra: *Phoma* sp. es el hongo causante de esta enfermedad. Afecta hojas, capachos y tallo. En las hojas se presenta una mancha en forma de "V" de color marrón oscuro. En los capachos se presenta una mancha

oscura, que comienza desde la base del cáliz formando anillos a medida que avanza la enfermedad. En los tallos aparecen lesiones alargadas de color verde pálido a amarillo, con el centro gris ceniza (Figura 5).

Figura 5. Síntomas de la muerte descendente o mal de tierra. A: Mancha alargada en tallos en forma irregular, B: Mancha en el capacho de los frutos, C y D: Mancha grisácea en forma de "V" sobre hojas.

Mancha grasienta: Afecta el capacho como una mancha irregular trasparente y aceitosa, la cual inicia en el ápice del capacho hasta la base del mismo. Es originada por la bacteria *Xanthomonas* sp. (Figura 6).

Figura 6. Síntomas de mancha grasienta en frutos.

Marchitez bacterial: *Ralstonia solanacearum* es la bacteria causante del marchitamiento de la planta. Durante las horas de mayor temperatura el síntoma es más evidente, y después de 4 días las hojas se tornan amarillas y la planta muere.

Pulguilla: El causante es un pequeño cucarrón, *Epitrix* sp. Al alimentarse en las hojas, los adultos de este insecto dejan pequeños orificios en ellas (Figura 7).

Figura 7. Daños en hojas por pulguilla.

Perforador del fruto: La plaga es una polilla (*Heliothis subflexa*). Los adultos ponen sus huevos en tallos, hojas o malezas aledañas. Los daños los produce la larva una vez eclosiona, perforando el capacho en estado verde alimentándose del fruto también en estado verde. La presencia de la plaga se nota únicamente cuando hace el orificio de salida para alimentarse en otro fruto o para empupar, o por la presencia de excrementos en el ápice del capacho (Figura 8).

Figura 8. Daño por perforador. A y B: Daño en capacho de frutos verdes y maduros; C: Daño en fruto.

Mosca blanca o palomilla: Es originada por *Trialeurodes vaporariorum*. Debajo de la hoja se encuentran desde los huevos hasta los adultos. Los adultos se alimentan de la savia.

Babosas: Es originada por varias especies. El daño consiste en que durante la alimentación raspa los tallos tiernos y las hojas, y muchas veces puede consumir las hojas totalmente.

Otras plagas: Es común encontrar larvas de insectos lepidópteros perforando las hojas de las plantas de uchuva (Figura 9). Estas plagas no se han identificado, sin embargo, es importante monitorear las poblaciones y el daño de las plagas para tomar medidas de control en el cultivo.

Figura 9. Diferentes insectos perforadores de las hojas de uchuva.

Métodos de control de plagas y enfermedades

Paula Mesa
Investigadora Laboratorio de Control Biológico
Centro de Biotecnología y Bioindustria – CBB
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica.
E-mail: pemesaq@gmail.com

Para manejar las diferentes enfermedades y plagas presentes en el cultivo de la uchuva son varias las prácticas de control que se pueden integrar reduciendo al máximo las pérdidas ocasionadas por las bacterias, hongos, virus e insectos plaga presentes en el cultivo.

El control de las enfermedades causadas por los hongos, se basa principalmente en utilizar prácticas adecuadas de cultivo, tales como: distancias de siembra amplias (3x3 m o 3x2.5 m entre plantas y surcos); amarre en "V" con el fin de que la planta tenga suficiente aireación; podas sanitarias periódicas; recolección y eliminación de los frutos, ramas y hojas enfermas; nutrición balanceada del cultivo y control de malezas, sin dejar el suelo completamente al descubierto. Cuando aparezcan los primeros síntomas de las enfermedades y se requieran medidas de control, se recomienda empezar un programa de manejo, eligiendo correctamente los fungicidas específicos para cada enfermedad, asperjando completamente la planta incluyendo los frutos y haciendo rotación de los fungicidas durante todo el ciclo del cultivo. Aunque no hay productos registrados en Colombia para el control de todas las enfermedades de la uchuva, hay algunos productos aprobados por el Instituto Colombiano agropecuario - ICA (Tabla 1).

También es común entre los productores de uchuva el empleo de otros ingredientes activos utilizados en diferentes cultivos como: Carbendazim, Polietoxi etanol, Carboxin y Thiram. Generalmente los productores realizan mezclas de fungicidas y en varias ocasiones estos productos químicos no tienen acción sobre el fitopatógeno blanco, aumentando las pérdidas y los costos en la producción. Además, la mayoría de las enfermedades que tienen control químico no son significativamente limitantes en la producción de uchuva, como sí lo es el mal de semillero o *damping off* ocasionados por *Phytium* sp., *Rhizoctonia* sp. o *Fusarium* sp., y durante el desarrollo del cultivo el marchitamiento vascular (*Fusarium* sp.). Si bien existen en el mercado diferentes productos de síntesis química para el control de plagas y enfermedades, se presenta un alto grado de residualidad en las frutas la cual puede llegar a ser tóxica para los seres humanos. Lo anterior puede generar rechazo por parte de los diferentes

Tabla 1. Fungicidas aprobados para uso en el cultivo de la uchuva.

	Ingrediente activo (ia)	Enfermedad	Dosis recomendada	Categoría toxicológica
1	Azoxystrobin	Mancha gris (*Cercospora* sp.) Mancha negra (*Alternaria* sp.)	75-100 g/ha	IV
2	Clorothalonil	*Cercospora* y *Alternaria*	750 cc/ha	II
3	Difenoconazol	*Cercospora*	400-600 cc/ha	III
4	Tebuconazol	*Cercospora* y *Alternaria*	0.4 L/ha	III
5	Iprodine	*Cercospora* y *Alternaria*	0.75-1 L/ha	IV
6	Tebuconazol	*Cercospora* y *Alternaria*	0.5 L/ha	III
7	Propineb	*Cercospora*y *Alternaria*	1.8-2.4 kg/ha	IV
8	Triadimenol	*Cercospora*	0.4-0.6 L/ha	IV
		Alternaria	0.5-0.6 L/ha	IV
9	Diclofluanit	Moho gris (*Botrytis* sp.)	0.3-0.5 kg/ha	III
10	Prochloraz	*Botrytis*	0.3-0.5 kg/ha	III
11	Prochloraz	*Botrytis*	0.8 L/ha	II
12	Pyrimetanil	*Botrytis*	0.8-1 L/ha	IV

mercados internacionales, los que son muy rigurosos con las medidas y los requisitos de salubridad al recibir y liberar el producto.

En el caso de las bacterias y virus cuando la enfermedad se presenta, las plantas infectadas no tienen capacidad de recuperarse y no existen productos para su control; por lo tanto, se recomienda hasta ahora, la aplicación de algunas prácticas que disminuyen el riesgo de su aparición, tales como: plantas sanas para el trasplante, rotación de cultivos con especies no susceptibles, evitar la siembra en campos provenientes de cultivos de papa u otras solanáceas, desinfectar las herramientas utilizadas para las podas y cosecha antes de pasar a la siguiente planta e instalar un "balde de desinfección" con una mezcla de agua y yodo agrícola en la entrada del lote, para sumergir el calzado y las herramientas antes de ingresar al área del cultivo. Cuando se presenten plantas con síntomas iniciales de marchitez, se deben retirar y eliminar cuidadosamente sin disturbar el suelo o contaminar otras plantas.

En el manejo integrado de las plagas se deben seguir las siguientes pautas: mantener libre de malezas el lote para la siembra, trasplantar el material vegetal lo más endurecido posible, destruir los cultivos de uchuva abandonados cercanos al lote nuevo, y recolectar y eliminar los frutos afectados por la plaga. Cuando se encuentren huevos o pupas de la plaga en las plantas de uchuva o en otras plantas, se pueden hacer aplicaciones periódicas de un insecticida biológico que contenga *Bacillus thuringiensis* u otros organismos benéficos como parasitoides. Cuando el ataque es muy fuerte y requiera la aplicación de insecticida químico, se debe hacer 15 días antes de la cosecha. Los insecticidas aprobados por el ICA para uso en el cultivo de la uchuva se encuentran en la Tabla 2.

Tabla 2. Insecticidas aprobados para uso en el cultivo de la uchuva.

	Ingrediente activo (ia)	Plaga	Dosis recomendada	Categoría toxicológica
1	Tiametoxan	Mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*)	400 g/ha foliar, 50-100 cc/planta	IV
2	Lamdacyalotrina	Pulguilla (*Epitrix* sp.)	200 cc/ha	III
3	Metaldehído	Babosas	0.9 - 1.2 g/m^2	IV
4	Fenpyroximato	Complejo ácaros: *Aculops*	1.0 - 1.5 L/ha	III
		Lycopersici, Phytonemus pallidus y *Tarsonemus satisfacer*	400 cm^3/200 L de agua	
5	Acrinatrina	Complejo ácaros	0.75 L/ha	IV
6	Betaciflutrina	*Epitrix cucumeris*	0.4 L/ha	III
7	Imidacloprid Cyflutrin	*Trialeurodes vaporariorum*	1 L/ha	IV

En todos los casos de aplicación de agroquímicos se deben seguir las recomendaciones indicadas en las etiquetas de los envases, solo lo deben manipular y aplicar los mayores de edad y personas capacitadas para ello. En general, durante la aplicación se recomienda el uso de guantes, máscara, gafas, botas, delantal impermeable y asperjar en la dirección del viento. Cada elemento debe ser personal y no intercambiable; al terminar la labor debe limpiarse cualquier sustancia, polvo u otra partícula que pueda contener y realizar una revisión rigurosa.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, es prioritario el uso de alternativas como el control biológico, que permitan un control efectivo de las enfermedades en campo, disminuir la residualidad y así reducir las pérdidas y mejorar la competitividad del cultivo de la uchuva.

Nuevas alternativas de control: Control biológico y sus beneficios

Andrés Díaz
Investigador Laboratorio de Control Biológico
Centro de Biotecnología y Bioindustria – CBB
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica.
E-mail: adiaz@corpoica.org.co

El control de plagas y enfermedades tradicional se ha enfocado en el uso de productos químicos en un amplio espectro de cultivos; sin embargo, con el transcurrir del tiempo se ha demostrado que la implementación de estas tecnologías ha resultado en serios problemas de contaminación de suelos, aguas, aire y productos agrícolas debido a la alta residualidad, toxicidad y estabilidad de las moléculas químicas usadas.

Ante este panorama, el control biológico ha surgido como una alternativa más sostenible para el control de problemas fitosanitarios y plagas en muchos cultivos con resultados exitosos. No obstante, debido a las limitaciones tecnológicas para su producción y formulación y el modo de acción más lento en comparación con los plaguicidas químicos, los bioplaguicidas siguen teniendo una porción muy pequeña del mercado mundial de plaguicidas.

Dentro del amplio rango de microorganismos con efecto biocontrolador, desde hace más de tres décadas se han usado las bacterias aisladas de la rizósfera, ya que poseen un efecto positivo en el crecimiento de las plantas, por lo que se las denomina bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR por sus siglas en inglés), las que simultáneamente actúan como agentes biocontroladores por mecanismos directos proporcionándole a la planta en forma soluble elementos como fósforo y hierro o indirectos mediante la inhibición de microorganismos patógenos mediante la competencia por nutrientes o espacio en la raíz, producción de antibióticos, reducción del hierro disponible por sideróforos, síntesis de enzimas líticas o por la inducción de respuestas de defensa en la planta.

Entre algunos de los beneficios en el crecimiento vegetal por la adición de PGPR se encuentra un incremento en la germinación de la semilla, un aumento en la proliferación del sistema radical, un aumento en el contenido de clorofila, magnesio, nitrógeno y proteína, y un aumento en la actividad hidráulica de la planta, disminución en la senescencia de las hojas o un mayor rendimiento.

Entre los géneros de PGPR más conocidos está el género *Pseudomonas* sp., que se caracteriza por ser bacilos Gram negativos rectos o curvados con un tamaño de 0.5-

1.0 x 1.5-5.0 μm (Figura 10); no presentan formación de esporas y son aerobias. Este género está ampliamente distribuido en el medio ambiente por su capacidad de utilizar diferentes fuentes de carbono y tener bajos requerimientos nutricionales.

Otro género de gran importancia es *Bacillus* sp.; este es un grupo de bacilos Gram positivos rectos con un tamaño de 0.5- 2.5 x 1.2-10 μm (Figura 10) que presentan formación de esporas ovales o redondas, son móviles por flagelos perítricos, aerobios o anaerobios facultativos, crecen en un amplio rango de ambientes con diferente pH, temperatura y salinidad. Gracias a su habilidad para la producción de una pared celular de múltiples capas, la formación de esporas resistentes a condiciones de estrés, secreción de antibióticos y enzimas.

Las especies de *Bacillus* sp. tienen actividad biocontroladora frente a un amplio rango de patógenos, por medio de tres mecanismos: antagonismo, promoción de crecimiento de la planta o la estimulación de las defensas de esta, siendo la producción de toxinas y antibióticos de las familias de las surfactinas, iturinas y fengicinas las más importantes.

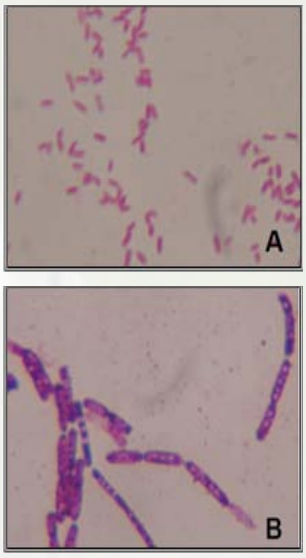

Figura 10. Observación microscópica (100x) de rizobacterias. (A) *Pseudomonas* sp. (B) *Bacillus* sp.

Tanto el género *Pseudomonas* sp. como el género *Bacillus* sp. se destacan por su acción biocontroladora frente a *Fusarium oxysporum*, causante de la enfermedad marchitamiento vascular en diferentes cultivos; por ejemplo, Liu y colaboradores (1995) reportaron que la cepa de *Pseudomonas putida* 89B-27 indujo resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum* en raíces de plantas de pepino, observando una reducción en los síntomas y el número de plantas muertas comparadas con el control.

De otro lado, Hamed y colaboradores (2009) observaron cómo cepas de *Bacillus polymyxa* (B3) y *Pseudomonas fluorescens* (B4) redujeron la incidencia de *F. oxysporum f.* sp. *niveum* en semillas de melón en 64.7 y 59.4% respectivamente después de 4 y 8 semanas posteriores a la inoculación con respecto al control. De igual forma, *Pseudomonas fluorescens* WCS374 redujo en 42% el marchitamiento producido por *Fusarium oxysporum f sp. raphani* en semillas de rábano e incrementó en 45% su rendimiento (Leeman *et al*., 1995).

Benhamou y colaboradores (1998) reportaron que *Bacillus pumilus* SE34 redujo el marchitamiento producido por *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* en semillas de tomate, disminuyendo los síntomas y número de lesiones en raíces secundarias.

Actualmente varias cepas biocontroladoras de *Pseudomonas* sp. y *Bacillus* sp. se han incluido en la formulación de bioplaguicidas y se encuentran en el mercado aplicándose como productos secos, suspensiones, etc. Entre estos productos se incluyen: *Bacillus subtilis* GB03 (Kodiak®), MBI 600 (Subtilex®) y QST 713 (Serenade®), *Bacillus pumilus* GB34 (YieldShield®), *Bacillus licheniformis* SB3086 (EcoGuard®), una mezcla de *B. subtilis* GB122 y algunas cepas de *Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas putida y Pseudomonas chlororaphis* (Cedomon®).

Laboratorio de Control Biológico: Misión

Jimmy Alexander Zapata
Investigador Laboratorio de Control Biológico
Centro de Biotecnología y Bioindustria – CBB
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica.
E-mail: jzapatan@corpoica.org.co

El Laboratorio de Control Biológico del Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB) de Corpoica, cuenta con un equipo de investigadores dedicado a la investigación en el desarrollo de bioplaguicidas microbianos para el control de plagas y enfermedades en diferentes sistemas productivos, contribuyendo al aumento de la competitividad de la producción agrícola del país.

Para tal fin se realizan estudios de diversidad microbiana tendientes a aislar, caracterizar, evaluar y seleccionar aquellos microorganismos que presenten alta actividad biocontroladora contra determinado fitopatógeno o insecto plaga.

De esta forma, el Laboratorio cuenta dentro de sus desarrollos con un bioplaguicida a base del hongo *Trichoderma koningiopsis* cepa Th003 para el control de patógenos del suelo como *Fusarium oxysporum* en tomate y *Rhizoctonia solani* en papa, y patógenos foliares como *Botrytis cinerea* en mora. Así mismo, con un prototipo de bioplaguicida a base de la levadura *Rhodotorula glutinis* cepa LvCo7 para el control de *B. cinerea* en mora.

Igualmente, para el control de insectos se ha desarrollado un bioplaguicida a base de baculovirus registrado para la protección de semilla de papa contra polilla guatemalteca en condiciones de almacenamiento, así como bioplaguicidas a base de granulovirus para el control de polillas de la papa y nucleopoliedrovirus para el control de gusano cogollero del maíz.

Actualmente el Laboratorio cuenta con colecciones biológicas donde se encuentran accesiones de rizobacterias de los géneros *Pseudomonas* spp. y *Bacillus* spp. aisladas de la rizósfera de plantas de uchuva, las cuales presentan actividad de promoción del crecimiento vegetal sobre semillas y plántulas de uchuva, además de presentar actividad de control sobre *F. oxysporum* en el mismo sistema.

De esta colección se seleccionaron las accesiones Pf14 de *Pseudomonas fluorescens* y Bs006 de *Bacillus* sp., con las cuales se desarrollaron dos prototipos de bioplaguicida para ser utilizados en el control de *F. oxysporum* en uchuva, implementando su uso desde el establecimiento de semilleros, promoviendo su crecimiento y reduciendo el tiempo de trasplante, garantizando así llevar a campo plantas con un sistema radical colonizado por estas bacterias disminuyendo el riesgo de la infección del patógeno.

Desarrollo de bioplaguicidas para el control de *F. oxysporum*

Andrés Díaz
Investigador Laboratorio de Control Biológico
Centro de Biotecnología y Bioindustria – CBB
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica.
E-mail: adiaz@corpoica.org.co

Para el desarrollo de un bioproducto se debe cumplir con una serie de etapas que requieren de un trabajo multidisciplinario a mediano y largo plazo, con una inversión que fácilmente puede superar los 5 millones de dólares en 5 años (Figura 11).

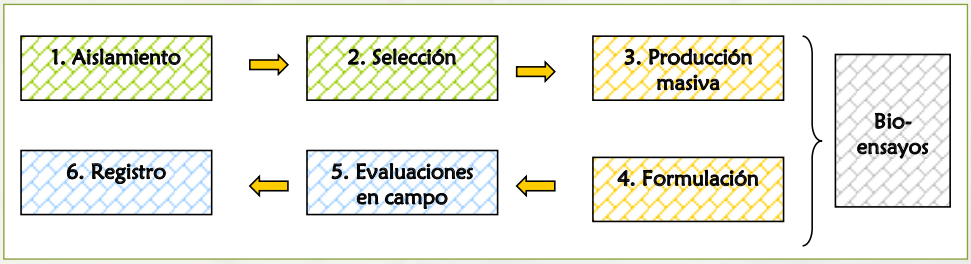

Figura 11. Esquema general para la obtención de un bioplaguicida.

Una vez definido el problema a abordar, en una primera etapa se debe llevar a cabo el aislamiento de los microorganismos potenciales o candidatos para el control biológico de una determinada plaga o enfermedad; esta actividad se realiza aplicando técnicas de aislamiento convencionales que involucran numerosos muestreos en hábitats o microambientes específicos. Es importante conocer las técnicas de manipulación y transporte adecuados para evitar la pérdida de viabilidad o de características de interés de dichos microorganismos.

En una segunda etapa a nivel de laboratorio se lleva a cabo un *screening* o selección para conformar una colección de microorganismos que hayan demostrado tener el efecto o característica de interés; para esto es indispensable estandarizar una técnica de evaluación de "alto desempeño", es decir, que permita de forma eficiente evaluar un número grande de muestras en un tiempo corto y con una inversión y estructura logística accesible. Una de las herramientas más usadas para llevar a cabo este tipo de estudios son las pruebas a nivel "micro", en las que se adaptan

numerosas técnicas enzimáticas, inmunológicas o colorimétricas existentes al tamaño de una placa de 96 pozos o microplaca. De la cantidad y calidad de la información generada dependerá la correcta selección de candidatos para ser evaluados en etapas posteriores; el número de estos debe ser lo más reducido posible, ya que en las etapas posteriores se requiere de una inversión mayor en infraestructura y recursos económicos y humanos.

En una tercera etapa se realiza la producción masiva de los microorganismos seleccionados, lo que implica la obtención de cantidades de biomasa suficientes para evaluar simultáneamente la característica de interés mediante bioensayos a nivel de laboratorio o invernadero. Generalmente se lleva a cabo la evaluación de diferentes fuentes nutricionales para optimizar o alcanzar la máxima producción de biomasa, lo que implica la aplicación de estrategias de diseño de experimentos para hacer más eficiente esta actividad. En este punto alguno de los candidatos se descarta, dado que no se alcanzan los niveles de biomasa o concentración necesarios para formular un prototipo de bioproducto, estos valores se obtienen con bioensayos previos para determinar las dosis letales o efectivas del microorganismo sobre la plaga o enfermedad a controlar.

En una cuarta etapa se desarrolla un prototipo de formulación, que consta básicamente de la biomasa del microorganismo con la adición de una mezcla de excipientes o auxiliares de formulación que proveen características de estabilidad en almacenamiento, protección UV, tolerancia a condiciones ambientales u otra ventaja adicional. Esto requiere de la implementación simultánea de bioensayos para demostrar que la característica de interés del microorganismo no se ve afectada por la adición de estos componentes, lo que implica que se debe llevar a cabo una selección cuidadosa de estos y se debe contar con cierto grado de experticia para el montaje e interpretación de los ensayos experimentales. En general, dada la complejidad de los sistemas de formulación, en esta etapa se trabaja con un número muy reducido de candidatos que han superado todas las etapas anteriores.

Una vez surtidas estas cuatro etapas "biológicas" y "tecnológicas" se debe evaluar el prototipo de formulación en condiciones de la vida real, es decir en campo, no solo para demostrar la eficacia de la solución tecnológica generada sino para cumplir con algunos de los requisitos necesarios para el registro de un bioproducto. De ser necesario, en función de los resultados obtenidos se hacen nuevos ajustes en las etapas tecnológicas para alcanzar el nivel de control de la plaga o enfermedad en campo definida previamente; en este punto se debe tener en cuenta que el bioproducto aplicado presentará múltiples tipos de interacciones con factores bióticos y abióticos en el cultivo que hacen muy difícil la generación e interpretación de los resultados.

Solo si se han surtido exitosamente las cinco etapas previas, se estará en capacidad de surtir todos los requerimientos legales y de registro en Colombia, cuyo ente regulador es el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Básicamente estas se refieren a demostrar la eficiencia del producto en cultivos monitoreados por el ICA para la expedición del registro de venta del producto y, si es el caso, se debe demostrar la capacidad técnica, de equipos e infraestructura si se desea obtener el registro de productor. Para el caso de bioproductos, los requerimientos operacionales son mucho más estrictos, dado que muchas de las etapas de producción requieren de condiciones especiales de asepsia, esterilidad y un control muy riguroso de variables tales como humedad, temperatura, luz, calidad del agua y vapor, entre otras; esto hace que los costos de inversión en una planta de producción sean más elevados.

En este contexto, la obtención de un bioplaguicida para el control del marchitamiento vascular de la uchuva causado por *Fusarium oxysporum* deberá surtir las mismas etapas y requisitos descritos. Sin embargo, este hongo patógeno ofrece unos retos biológicos y tecnológicos especiales dada su alta versatilidad fisiológica, que le permite la adaptación a diversas condiciones medioambientales y generar resistencia a corto plazo a la mayoría de los plaguicidas químicos, además de su capacidad de sobrevivir hasta 30 años en el suelo, ya que produce estructuras de resistencia. Por tanto, el bioproducto a desarrollar idealmente debe tener las siguientes características:

- Concentración óptima del ingrediente activo para asegurar su eficacia.
- Compatibilidad con algunos de los principales fungicidas y plaguicidas comúnmente usados en el cultivo de uchuva para permitir la integración en un Programa de Manejo Integrado del Cultivo (MIC).
- No presentar fitotoxicidad o algún otro tipo de efecto negativo sobre uchuva u otro cultivo.
- Elevada permanencia en el suelo manteniendo la viabilidad del ingrediente activo.
- Facilidad de aplicación en el suelo usando equipos convencionales.
- Facilidad de dosificación, dispersión o disolución.

Mediante la selección rigurosa del microorganismo biocontrolador, con el desarrollo de procesos eficientes de producción del ingrediente activo y una exhaustiva investigación en prototipos de formulación, en el Laboratorio de Control Biológico de Corpoica se solventaron algunos de los retos asociados a las seis características mencionadas. Esta investigación inicial que tomó 3 años, financiada por el MADR y Asohofrucol en el marco del proyecto "Estrategias de control biológico de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de uchuva (*Physalis peruviana*)", permitió la obtención de tres prototipos de formulación a base de rizobacterias.

Uno de los prototipos, a base de la rizobacteria *Pseudomonas* sp. Pf014, se formuló en una presentación de líquido concentrado con una concentración de 1.49×10^{12} UFC/ml. Con este se alcanzó una germinación de semillas de uchuva del 93% en 17 días, mientras en el testigo no tratado la germinación fue inferior al 90%; también se observó una disminución de la incidencia de *F. oxysporum* en invernadero en un 17% y aumentó la producción de uchuva en campo en un 19.4% (alcanzando 19.3 t/ha·año), en comparación con el tratamiento agricultor.

El otro prototipo, a base de la rizobacteria *Bacillus* sp. Bs006, se formuló en una presentación de líquido concentrado con una concentración de 1.6×10^{11} UFC/ml y demostró ser estable en su viabilidad durante tres meses a temperatura de refrigeración (4°C) (Figura 12). Con este se alcanzó una germinación de semillas de uchuva del 90% en 20 días, mientras en el testigo no tratado la germinación fue inferior al 90% y se disminuyó la incidencia de *F. oxysporum* en invernadero en un 24%. Adicionalmente, aumentó la producción de uchuva en campo en un 48.4% (23.9 t/ha·año), en comparación con el tratamiento agricultor.

Sumado a lo anterior, se desarrolló un prototipo sólido para suspender en agua a base de la rizobacteria *Pseudomonas* sp. Pf014, que presentó adecuadas características microbiológicas y fisicoquímicas pero cuyo costo de producción fue el más elevado, por lo que solamente fue evaluado hasta nivel de invernadero (Figura 12).

Figura 12. Izq. Prototipo líquido a base de *Bacillus subtilis* Bs006. Der. Prototipo sólido a base de *Pseudomonas* sp. Pf014.

Los dos prototipos líquidos se encuentran en evaluación a través de un ciclo completo de cultivo de uchuva para determinar la relación beneficio/costo de esta tecnología, pero desde la primera cosecha han demostrado una reducción en los costos de aplicación y un aumento en los beneficios económicos para el agricultor. Simultáneamente se ha observado una incidencia de *F. oxysporum* menor al 15% después de 6 meses en un lote infestado en el que se había presentado incidencias de hasta el 80% del marchitamiento vascular.

Perspectivas

Andrés Díaz
Investigador Laboratorio de Control Biológico
Centro de Biotecnología y Bioindustria – CBB
Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica.
E-mail: adiaz@corpoica.org.co

A la luz de los resultados obtenidos en los últimos tres años, algunos de los cuales se presentaron en esta cartilla, es indispensable consolidar una plataforma robusta para dar soporte al uso de bioproductos dentro de un marco de manejo integrado del cultivo de uchuva; esta debe involucrar los componentes de promoción de crecimiento y control biológico del marchitamiento vascular causado por *F. oxysporum*, teniendo como línea base todos los resultados presentados en este boletín técnico.

En concordancia con lo mencionado, es necesario llevar a cabo evaluaciones de formas y frecuencias de aplicación de los prototipos de los bioproductos desarrollados para determinar el número de aplicaciones óptimas y evaluar la integración de estos con otras soluciones tecnológicas que desarrolla actualmente el Centro de Biotecnología y Bioindustria, tales como el uso del bioplaguicida TRICOTEC WP® a base de *Trichoderma koningiopsis* y la micropropagación de variedades de uchuva resistentes a *F. oxysporum*.

La implementación futura de estas herramientas de manejo del cultivo permitirá mejorar la competitividad del sector, aumentar los ingresos de los pequeños y medianos agricultores y hacer ambientalmente más sostenible la producción frutícola en las regiones de Cundinamarca y Boyacá.

Terminó de imprimirse
en mayo de 2012 en

produmedios
Producción de Medios de Comunicación

Tel: 893 7710 – Bogotá, DC