

Inductores químicos de resistencia en la supresión de la marchitez del algodónero causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* en sistema hidropónico

I. Guevara y E. Rodríguez-Gálvez¹

¹*Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Piura. Campus Universitario s/n, Urb. Miraflores, Castilla, Piura.*

Resumen

Se evaluó la eficiencia de Inductores de Resistencia Químicos (IRQ) frente a la marchitez del algodónero causada por *Fusarium oxysporum* en condiciones de hidroponía. Se utilizó Benzothiadiazole (BTH), Citrex (Ag), Fosfito Potásico (Fp), Sulfato de Cobre Pentahidratado Sistémico (Phy) y como testigo, Tebuconazole (Te) a diferentes concentraciones. Los productos se emplearon utilizando 3 métodos: en inmersión de semillas, aspersion foliar e inmersión de raíces. Los resultados fueron variados y dependieron tanto del método de aplicación como de la concentración de los productos. En inmersión de semillas, los mejores tratamientos fueron Phy, Ag y Fp; en aspersion foliar, Phy mostró ser mas eficiente en suprimir los síntomas de marchitez y en inmersión de raíces, Te y Phy demostraron ser los más eficientes. Los resultados nos demostraron que los IRQ son una alternativa para el control de la marchitez del algodónero en condiciones controladas.

Palabras clave: algodónero Pima, marchitez vascular, resistencia inducida.

Chemical resistance inducers in the suppression of cotton wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in hydroponic system

Abstract

An evaluation was made of the efficiency of Chemical Resistance Inductors to suppress the cotton wilt caused by *Fusarium oxysporum* in hydroponic conditions. It were utilized Benzothiadiazole (BTH), Citrex (Ag), Potassium Phosphite (Fp), Systemic Pentahydrated Copper Sulphate (Phy) and Tebuconazole (Te) as control; at different concentrations. The products were employed utilizing three methods: seeds immersion, foliar aspersion and roots immersion. The results varied and depended on the application method as well as on the products concentration. In seed immersion the best treatments were Phy, Ag and Fp; in foliar aspersion, Phy proved to be more efficient in suppressing wilting symptoms; and in root immersion Te and Phy proved to be the more efficient. The results showed that the chemical resistance inductors are an alternative for controlling wilting in controlled conditions.

Key words: pima cotton, vascular wilting, induced resistance.

¹ E mai del autor: erg@unp.edu.pe.

Introducción

La marchitez del algodónero causada por *Fusarium oxysporum* es una de las enfermedades de mayor importancia en las condiciones de Piura-Perú, por los daños económicos que causa (Cruz-Neira *et al.* 2003).

En la práctica, se ha demostrado que un control efectivo de esta enfermedad se puede realizar mediante el uso de cultivares resistentes con mucho éxito (Delgado y Rodríguez, 1995). El control químico no es efectivo debido a la inaccesibilidad del patógeno, ya que éste realiza una patogénesis en el sistema vascular de la planta. Asimismo, el hecho que el hongo tenga como hábitat natural al suelo, hace que cualquier producto químico que se aplique sea insuficiente para reducir la población.

Una nueva alternativa de control de enfermedades de plantas se basa en la “resistencia inducida”, mediante la cual las plantas son protegidas de las enfermedades causadas por hongos, ya sea a través de una infección inicial por un patógeno (Kuc, 1982) o por la aplicación de productos químicos sintéticos que activan respuestas de resistencia de la planta (White, 1979; Gottsein y Kuc, 1989; Kessmann *et al.* 1994).

El mecanismo de acción de esta resistencia se basa en la activación de los genes de resistencia en la planta, provocada por inductores (patógenos o productos químicos), los mismos que promueven la síntesis de peroxidasas y PR-proteínas (Proteínas relacionadas a la patogénesis) (Ryals *et al.* 1994; Sticher *et al.* 1997), por lo tanto, no contaminan el medio ambiente y no existe el riesgo de crear resistencia en los patógenos (Kessmann *et al.* 1994). Este tipo de resistencia bien podría utilizarse para complementarla con la resistencia genética y así incrementar las posibilidades de control de esta enfermedad.

La presente investigación se realizó con la finalidad de evaluar la efectividad de

inductores de resistencia químicos, en la supresión de síntomas de marchitez del algodónero bajo un sistema hidropónico.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se trabajó con el cultivar de algodónero Pima FUNDEAL 4 (F-4C), susceptible a la marchitez (Fundación para el Desarrollo del Algodonero, Piura). Semillas de este cultivar fueron desinfectadas en hipoclorito de sodio al 2% por 2 min, lavadas en agua destilada estéril por 1 hora y finalmente, sembradas en arena estéril contenida en terrinas de 1 kg de capacidad. Las terrinas se llevaron al tinglado a temperatura ambiente.

Productos utilizados

Se utilizaron los siguientes productos, 1: Benzothiadiazole 50 % WP = Bion (Novartis, Suiza) (BTH), 2: Citrex 8% = Agrilife (Conagra, Perú) (Ag), 3: Fosfito Potásico, K_2HPO_3 84% = Cuneb Forte (Drokasa, Perú) (Fp), 4: Sulfato de Cobre pentahidratado sistémico 247g/l = Phytón (Serfi, Perú) (Phy), y 5: Tebuconazole 25,9% = Folicur (Bayer, Perú) (Te) como testigo positivo.

Aplicación de productos

Los productos se prepararon en soluciones y se aplicaron de tres formas: 1.- **Inmersión de semillas.** Se prepararon dos soluciones distintas de cada producto y en cada una de éstas se sumergieron completamente las semillas, permaneciendo en las soluciones por distinto tiempo. Posteriormente a la inmersión, las semillas fueron sembradas en arena estéril contenida en terrinas de 1 kg de capacidad. La concentración de las soluciones fue de 0,03% y 0,05% para BTH; 0,1% y 1,5% para Ag; 0,2% y 0,3% para Fp; 0,1% y 0,15% para Phy; para Te fue de 0,05% y 0,075%. La permanencia de las semillas en cada una de las soluciones varió de 10 min, para Phy y Te; 30 min para Ag y 60 min para BTH y Fp. 2.- **Aspersión al follaje.** Plántulas crecidas en arena estéril fueron tratadas en tres oportunidades, a los 5, 7 y 9 días después

de la germinación, mediante aspersiones, foliares de los productos a distintas concentraciones. La concentración de los productos en las soluciones fue de 0,05% y 0,08% para BTH; 0,15% y 0,2% para Ag; 0,25% y 0,35% para Fp; 0,25% y 0,3% para Phy; 0,1% y 0,15% para Te. 3.- **Inmersión de raíces.** Plántulas de algodónero obtenidas en arena estéril fueron extraídas, cuidadosamente, de las terrinas 10 días después de la siembra, utilizando agua corriente que desplazó la arena adherida a las raíces, éstas fueron sumergidas luego en las soluciones de los productos permaneciendo por distinto tiempo en ellas. La concentración de las soluciones para cada producto fue la misma a la utilizada en la prueba de inmersión de semillas. La permanencia de las raíces en las soluciones fue de 60 min para BTH y Fp; 30 min para Ag y Phy; y 15 min para Te.

Material fungoso

Se utilizó el aislamiento virulento FQ-27 obtenido de plantas de algodónero afectadas por marchitez (Rodríguez-Gálvez *et al.* 2000). Con este aislamiento se preparó primeramente una suspensión fungosa utilizando agua destilada estéril, se filtró a través de algodón estéril para, finalmente, obtener una suspensión microconidial (Rodríguez-Gálvez, 1995). La concentración de microconidias se estandarizó en $3,5 \times 10^5$ microconidias por mililitro (mic.mil^{-1}), en un espectrofotómetro (Coleman Junior II), a una longitud de onda de 450 nm y a una absorbancia de 0,1 (Rodríguez-Gálvez y Maldonado, 1998).

Inoculación

Las plántulas de algodónero tratadas con los productos químicos en las tres formas detalladas anteriormente, fueron inoculadas 10 días después de la germinación mediante inmersión de raíces en la suspensión microconidial del patógeno ($3,5 \times 10^5 \text{ mic.mil}^{-1}$) por el lapso de 1 hora (Rodríguez-Gálvez y Maldonado, 1998). Posteriormente, las plántulas se colocaron en una solución hidropónica contenida en frascos de color

oscuro de 600 ml de capacidad. Las plántulas permanecieron en condiciones hidropónicas por 21 días para su evaluación a una temperatura promedio de 28°C y 65% de humedad relativa. Se inocularon 24 plántulas por tratamiento. El testigo inoculado (Ti) consistió en plántulas provenientes de semillas sin tratar e inoculados mediante inmersión de raicillas en la misma suspensión microconidial del patógeno citado anteriormente. El testigo no inoculado (Tni) lo constituyeron plántulas sanas sumergidas en agua estéril y mantenidas en suspensión hidropónica.

Evaluación de la severidad de la enfermedad.

La severidad de la marchitez fue evaluada diariamente hasta los 21 días después de la inoculación, utilizando grados (G). G3: plántulas con marchitez severa alcanzada hasta 7 días después de la inoculación (ddi). G2: plántulas con marchitez severa entre los 8 y 14 ddi. G1: plántulas con marchitez severa entre los 15 y 21 ddi. Las plántulas sin síntomas de marchitez severa, fueron cortadas a lo largo del tallo para analizar el avance del patógeno en el sistema vascular, detectado como necrosis del tejido vegetal así G 0,75: plántulas con necrosis en un 75% de la longitud del tallo, G 0,5: plántulas con necrosis en 50%, G 0,25: plántulas con 25% de necrosis; G 0,1: plántulas con necrosis a nivel del cuello de la plántula; G 0: plántulas sanas, sin necrosis en el sistema vascular. Los índices de severidad se calcularon con la siguiente fórmula: $IS = \frac{3n_3 + 2n_2 + \dots + 0,1n_1}{N}$. Donde, 3; 2;...; 0,1 = grado (G); n = número de plántulas con el grado respectivo y N = número total de plántulas evaluadas (Rodríguez-Gálvez y Maldonado, 1998).

Diseño experimental y análisis estadísticos

Se utilizó un diseño completamente al azar con 24 repeticiones por tratamiento, los análisis de variancia (ANOVA) y el test de Duncan (P=0.05) se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico de SAS (utilizado bajo

licencia de la Universidad Estatal de Montana, USA). Los datos para los análisis se transformaron a $\sqrt{x+1}$.

Resultados

Inmersión de semillas

Los índices de severidad de la marchitez más bajos se observaron en plantas tratadas con Phy 1.5%; Ci 1.0% y Fp 2.0%; los mismos que se diferenciaron significativamente del resto (Cuadro 1). Los porcentajes de supresión de la enfermedad mas altos correspondieron a los mismos tratamientos con índices de 90,9%; 85,86% y 68,69% respectivamente (Fig. 1).

Aspersión foliar

Cuando los productos se asperjaron foliarmente, Phy 0,30% y Phy 0,25% mostraron los IS más bajos con 0,03 y 0,21 respectivamente diferenciándose significativamente del resto. BTH a 0,05% y 0,08% siguió en orden de mérito con IS de 0,32 y 0,44 (cuadro 2). El porcentaje de supresión de la marchitez más alto lo mostró Phy 0,3% con 96,7%, seguido de Phy 0,25% y BTH 0,05% con 78,5% y 67,6%, respectivamente (Fig. 2).

Inmersión de raíces

La aplicación de los productos a través de inmersión de raíces demostró que los mejores tratamientos fueron Te 0,05%; Te 0,075%; Phy 0,2% y Phy 0,15%, los mismos que se mostraron los índices de severidad mas bajos (Cuadro 3). El porcentaje de supresión de la marchitez fue total para el caso de Te en sus dos concentraciones probadas y de 92,21% y 90% para Phy (Fig. 3).

Discusión

El presente trabajo mostró variabilidad en los resultados de severidad de la enfermedad en dependencia, no sólo de los productos utilizados con sus respectivas dosis, sino también con el método de aplicación empleado.

El sulfato de cobre pentahidratado sistémico (Phy) fue el mas eficiente, específicamente cuando fue aplicado a las semillas y foliarmente, a juzgar por el bajo índice de severidad y el consiguiente porcentaje de supresión de la marchitez, siendo superado solamente cuando el tratamiento se hizo por inmersión de raíces, donde, sin embargo, no se observó diferencias estadísticas. Este producto ha sido ya reportado como eficiente en el control de la muerte regresiva del mango causada por *Lasiodiplodia theobromae* en condiciones de laboratorio y campo (Rodríguez-Gálvez, 2003). En esta investigación se menciona asimismo, como método recomendable de aplicación del producto, al sistema radicular; situación que en la presente investigación no funcionó. Rodríguez-Gálvez *et al.* (2005), demostraron que Phy es también eficiente en el control de la antracnosis del fruto de mango causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, aún sin que el producto tenga contacto con el fruto.

El ya conocido inductor de resistencia Benzothiadiazole o Bion, mostró índices de severidad bajos únicamente cuando fue aplicado foliarmente, con una supresión de la enfermedad de 67%, siendo superado sin embargo por Phy. Con los otros dos métodos de aplicación, Bion no mostró eficiencia en el control de la enfermedad, contrariamente Benhamou y Bélager obtuvieron un control eficiente de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en plantas de tomate tratadas previamente con Bion.

El fosfito de potasio provocó niveles de severidad bajos solamente en el tratamiento de semillas, en igual forma que el Phy y Ag. Ya está comprobado que este compuesto o derivados de los fosfatos, dentro de los que se encuentran K_3PO_4 , K_2HPO_4 , Na_3PO_4 , Na_2HPO_4 , inducen resistencia en plantas contra enfermedades fungosas, como en pepinillo contra *Colletotrichum lagenarium* (Gottsein y Kuc, 1989) y recientemente en frutos de mango contra *C. gloeosporioides* (Rodríguez-Gálvez *et al.* 2005).

Tebuconazole, un fungicida ampliamente conocido, mostró eficiencia solamente cuando fue aplicado por inmersión de las raíces, con índices de supresión de la enfermedad del 100%, estos valores pueden haberse obtenido por el tipo de inoculación que fue también por inmersión de raíces en suspensión de conidias del hongo, luego de haber permanecido en una solución del producto. Es muy probable que restos del producto hayan quedado adheridos a las raicillas y estas hayan tenido un efecto fungicida directo sobre las conidias del hongo, aparte, naturalmente, del efecto, sistémico sobre el patógeno.

Cuadro 1: Severidad (IS) de la marchitez (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) en plántulas de algodónero cuyas semillas fueron tratadas con inductores químicos de resistencia

Tratamiento	IS	Significancia (P= 0.05)
Testigo no inoculado	0.00	A
Sulfato de cobre 0,15%	0.10	a b
Citrex 0,10%	0.15	a b
Fosfito potásico 0,20%	0.32	a b
Fosfito potásico 0,30%	0.39	b
Citrex 0,15%	0.44	b c
Benzothiadiazole 0,05%	0.50	c d
Tebuconazole 0,075%	0.71	d
Tebuconazole 0,05%	0.74	d
Benzothiadiazole 0,03%	0.82	d
Sulfato de cobre 0,10%	0.98	d
Testigo inoculado	0.99	e

Cuadro 2: Severidad (IS) de la marchitez (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) en plántulas de algodónero previamente asperjadas con inductores químicos de resistencia .

Tratamientos	IS	Significancia (P= 0,05)
Testigo no inoculado	0,000	A
Sulfato de cobre 0,30%	0,033	A
Sulfato de cobre 0,25%	0,213	a b
Benzothiadiazole 0,05%	0,321	b c
Benzothiadiazole 0,08%	0,438	c d
Fosfito de potasio 0,35%	0,654	d e
Citrex 0,15%	0,658	d e
Fosfito de potasio 0,25%	0,671	d e
Tebuconazole 0,15%	0,708	d e
Tebuconazole 0,2%	0,771	e f
Citrex 0,10%	0,788	e f
Testigo inoculado	0,992	f

Cuadro 3: Severidad (IS) de la marchitez (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) en plántulas de algodónero cuyas raíces fueron sumergidas en inductores químicos de resistencia

Tratamiento	IS	Significancia P= (0.05)
Testigo no inoculado	0,000	a
Tebuconazole 0, 05%	0,000	a
Tebuconazole 0, 075%	0,000	a
Sulfato de cobre 0, 20%	0,088	a b
Sulfato de cobre 0, 15%	0,113	a b
Benzothiadiazole 0, 05%	0,229	b c
Benzothiadiazole 0, 03%	0,246	b c
Citrex 0,10%	0,275	b c d
Citrex 0, 15%	0,333	c d
Fosfito de potasio 0, 30%	0,379	c d
Fosfito de potasio 0, 25%	0,479	d
Testigo inoculado	1,125	e

En todos los casos el testigo mostró los más altos índices de severidad de la marchitez lo cual reafirma la virulencia del aislamiento FQ-27 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

La presente investigación nos ha demostrado que el control de la marchitez del algodónero causada por *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* en condiciones de hidroponía es posible realizarlo mediante el uso de inductores de resistencia como Phy y Fp, quedando éstos como alternativas importantes, a pesar de ello se deberá hacer los trabajos de campo posteriores y los análisis costo-beneficio.

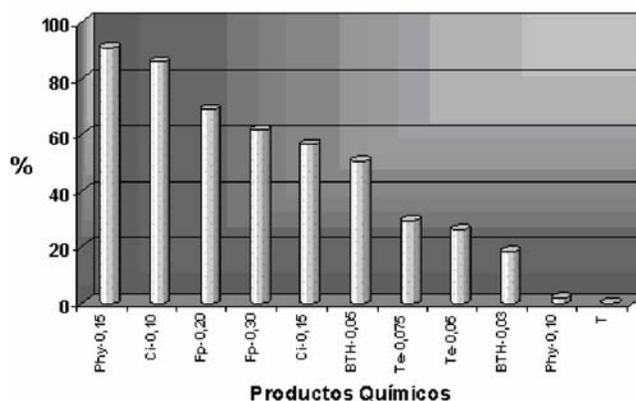


Fig. 1. Supresión (%) de la marchitez (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) en plántulas de algodónero cuyas semillas fueron tratadas con inductores químicos de resistencia

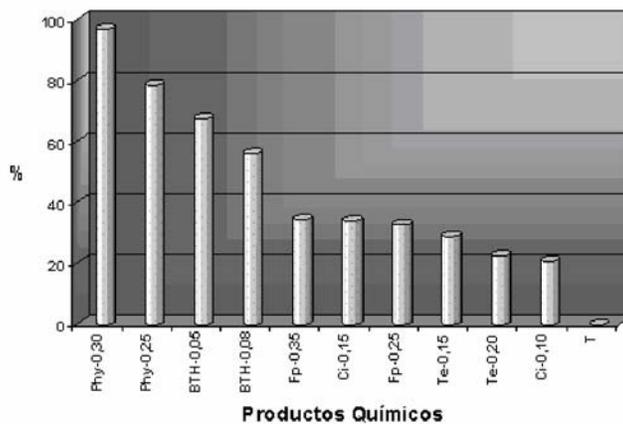


Fig. 2. Supresión (%) de la marchitez (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) en plántulas de algodónero previamente asperjadas con inductores químicos de resistencia.

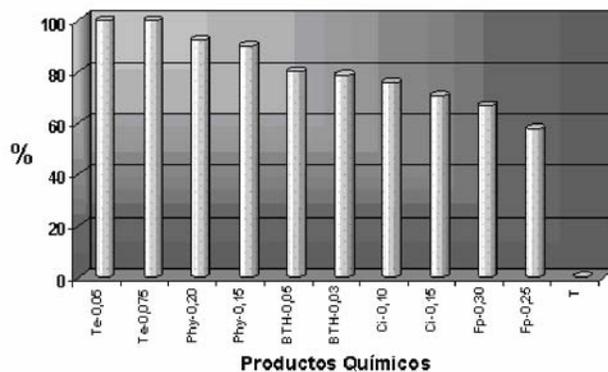


Fig. 3. Supresión (%) de la marchitez (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) en plántulas de algodónero cuyas raíces fueron tratadas con inductores químicos de resistencia.

Referencias bibliográficas

- Cruz-Neira, J., Maldonado, E. y Rodríguez-Gálvez, E. 2003.** Influencia de la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* sobre el rendimiento del algodón Pima Fitopatología **38**(4):159-169
- Delgado, M. A. y Rodríguez, G., E. 1995.** Evaluación y análisis comparativo de linajes de Algodonero Pima en su residencia a marchitez causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* en suelos altamente infestados. Universalía **1**(1):11 - 30.
- Gottsein, H.D. and Kuc, J. 1989.** Induction of systemic resistance to anthracnose in cucumber by phosphates. Phytopathology **79**:176-179.
- Kessmann, H., Staub, T. Hofmann, C. Maetzke, T. Herzog, J. Ward, E. Uknes, S.J. and Ryals, J. 1994.** Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. Ann. Rev. Phytopathol. **32**: 429-459.
- Kuc, J. 1982.** Induced immunity to plant disease. Bio Science **32**, 854-860.
- Ryals, J.S., Uknes, S. and Ward, E. 1994.** Systemic acquired resistance. Plant Physiology **104**: 1109-1112.
- Rodríguez-Gálvez, E. 1995.** Lichtmikroskopische, elektronenmikroskopische und immunelektronenmikroskopische Untersuchungen der Wirt-Pathogen Interaktion *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* und Baumwolle (*Gossypium barbadense* L. cv. Pima). Dr. Koster Verlag. Berlin. Bundesrepublik Deutschland. 123 pp.
- Rodríguez-Gálvez, E y Maldonado E. 1998.** Reacción de Tres Cultivares Peruanos de Algodonero Pima (*Gossypium barbadense* L.) a *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. Fitopatología **33** (2): 127 - 132.
- Rodríguez-Gálvez, E., García, L., García, M. y Cruz, H. 2000.** Control de la marchitez del algodón Pima (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) con aislamientos no agresivos de *F. oxysporum* bajo condiciones de hidroponía. Fitopatología **35**(4):223-230.
- Rodríguez-Gálvez, E. 2003.** Muerte Regresiva del Mango causada por *Lasiodiplodia theobromae* Ed. Fimar Editores e Impresores S.A. Lima-Perú 28 pp.
- Rodríguez-Gálvez, E. Juárez, A. y Maldonado, E. 2005.** Supresión de la antracnosis del mango causada por *Colletotrichum gloeosporioides* mediante inductores de resistencia químicos. Universalía **10**(2):2-10.
- White, R.F. 1979.** Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. Virology **99**, 410-412.
- Sticher, L., Mauch, B. and Mettraux, J.P. 1997.** Systemic acquired resistance. Ann. Rev. Phytopathol. **35**: 235-270.