

## AISLAMIENTOS NATIVOS Y FORÁNEOS DE *Trichoderma* PARA EL CONTROL DE RIZOCTONIASIS EN PAPA CRIOLLA

## NATIVE O FOREIGN STRAINS OF *Trichoderma* FOR CONTROL OF RHIZOCTONIASIS IN YELLOW POTATO

Lilliana Hoyos C.<sup>1</sup>, Felipe Galvis<sup>2</sup>, David Rodríguez<sup>2</sup>

Fecha de recepción: Octubre 14 de 2011

Fecha de aceptación: Diciembre 12 de 2011

### RESUMEN

El objetivo de este estudio fue la búsqueda y análisis de las cepas de *Trichoderma* spp. con potencial biocontrol contra *R. solani* causante de rizoctoniasis de la papa (*Solanum tuberosum* grupo *phureja*). Se obtuvieron 55 cepas de *Trichoderma* del suelo y la rizosfera en cultivos de papa, pastos y arveja en Cundinamarca y Boyacá, y otros de zonas cálidas (Cundinamarca y Cesar) a fin de contrastar la eficacia de las cepas de los agroecosistemas de papa y otros de diferentes suelos y zonas agroecológicas. De estas, cinco cepas fueron seleccionadas también se utilizó un producto comercial. T07 y T51, de *Passiflora edulis* y *S. tuberosum* respectivamente, mostraron diferencias significativas en tallos sanos y reducción de esclerocios; los tratamientos con T07, T48 y T51 presentaron diferencias significativas en los resultados de las variables de sanidad y fisiología de la planta (número de raíces, diámetro) evaluados durante este estudio, siendo más eficientes en el proceso de adaptación y colonización de sustrato, también las cepas presentes en la tolerancia a validamicina, utilizada para el control químico de *R. solani*. En contraste con *Trichoderma* T41 de *S. tuberosum*, la cual no protege a los tubérculos y no tiene tolerancia a los fungicidas. Se puede concluir que es posible el uso de cepas nativas y foráneas, ya que la fuente del antagonista no es un determinante

<sup>1</sup> Profesora. I.A. Ph.D. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. [limhoyosca@unal.edu.co](mailto:limhoyosca@unal.edu.co)

<sup>2</sup> Ingenieros Agrónomos, Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá [ifgalvis@unal.edu.co](mailto:ifgalvis@unal.edu.co)

de la actividad biológica (micoparasitismo), la adaptación al suelo y las condiciones de gestión (fungicida de tolerancia), porque el comportamiento antagónico depende más de las características metabólicas del aislamiento de Trichoderma y su interacción con los agentes patógenos y la planta.

**Palabras clave:** Papa criolla, biocontrol, *Rhizoctonia*

## ABSTRACT

The aim of this study was the search and analysis of isolates of *Trichoderma* spp. with biocontrol potential against *R. solani* causing rhizoctoniasis in potato (*S. tuberosum* group *phureja*). Were obtained 55 strains of Trichoderma from rhizosphere and soil in potato crops, grasses and peas in Cundinamarca and Boyacá, and other from warmer areas (Cundinamarca and Cesar), in order to contrast the effectiveness of strains from potato agroecosystem and others from of different soils and agroecological zones. Of these, 5 strains were selected and was used also a commercial product. T07 and T51, from *P. edulis* and *S. tuberosum* showed significant proportion of healthy stems and fewer sclerotia; treatments with strains T07, T48 and T51 showed significant differences results for the variables of health and physiology of the plant (root number, diameter and health) assessed during this trial, being more efficient in the process of adaptation and colonization of substrate; also those strains present tolerance at validamycin, used for chemical control of *R. solani*. In contrast to Trichoderma T41 from *S. tuberosum*, do not protect tubers and do not reveal tolerance to the fungicide. Finally can be concluded that is possible to use native and foreign strains, because the source of the antagonist is not a determinant of biological activity (mycoparasitism), adaptation to soil or management conditions (fungicide tolerance), because antagonistic behavior depends more on the characteristics metabolic isolation of Trichoderma and its interaction with the pathogens and the plant.

**Key words:** Native potato, biocontrol, *Rhizoctonia*

## INTRODUCCIÓN

Con respecto al control de Trichoderma sobre patógenos, existen numerosos reportes, siendo éste uno de los principales biofungicidas usados en la actualidad (Vinale *et al.*, 2008). Una de las mayores dudas que existe, es si este hongo micoparásito debe ser aislado de sistemas agrícolas en los cuales será usado, o su origen inicial es indiferente, siempre y cuando su actividad

de control sobre patógenos sea la adecuada. La primera premisa se basa en aspectos como la adaptación a factores edáficos particulares (biológicos o ambientales) de la cepa de Trichoderma, lo cual hará que este sobreviva y por ende actúe de forma más eficaz en un agroecosistema igual o similar al que procede, como lo reportaron Anees *et al.*, 2010 para cepas de *Trichoderma* spp. controlando *R. solani* en papa. En el segundo caso, se centra en la capacidad parasítica del

aislamiento teniendo en cuenta que, su adaptación al medio puede ser o no limitada por tanto es indiferente su procedencia (Savazzini *et al.*, 2009, Vinale *et al.*, 2009).

Los patógenos de suelo son uno de los principales blancos de control de organismos biocontroladores como *Trichoderma*, uno de los más reportados es *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn (Hoyos *et al.*, 2008a, 2008b; Howell, 2006; Lewis y Lumsden, 2001, Sherm *et al.*, 2009). Este hongo basidiomicete es el agente causal de la rizoctoniasis en papa (teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk), la enfermedad se manifiesta en las partes subterráneas del cultivo, produciendo una reducción significativa del vigor de las plantas, ya que causa muerte de brotes por la formación de chancros que pueden llegar a rodear el tallo, genera una reducción del sistema radical, además produce esclerocios superficiales en tubérculos, malformaciones, cambios de tamaño y disminución cantidad producida de éstos deteriorando su calidad y ocasionando pérdidas de hasta un 50%. Mientras que el inóculo del tubérculo puede ser la principal fuente de infección, también existe transmisión por el hongo que permanece en el suelo. Los tratamientos fungicidas aplicados a los tubérculos-semilla o suelo no puede proporcionar un control eficaz contra este último tipo de inóculo, sobre todo en el caso de los altos niveles en suelo, por tanto son los biocontroladores la alternativa de control más eficiente (Wilson *et al.*, 2008).

Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo del estudio es la búsqueda y análisis de aislamientos de *Trichoderma* spp. con potencial biocontrolador sobre aislamientos de *R. solani* provenientes de papa criolla (*S. tuberosum* grupo *phureja*). Las cepas de *Trichoderma* se obtuvieron de papa criolla en Cundinamarca y Boyacá y otras

provenientes de zonas frutícolas cálidas (Cundinamarca y Cesar), para contrastar la efectividad como biocontroladores en aislamientos propios del agroecosistema de papa y otros provenientes de diferentes suelos y zonas agroecológicas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Localización:** El experimento se llevó a cabo en los invernaderos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia, ubicada en la ciudad de Bogotá D.C., a una altura de 2556 msnm, (4° 35'56" norte y 74°04'51" oeste), humedad relativa promedio de 40%, brillo solar de 4.5 horas/día, temperatura promedio de 17°C en condiciones de libre exposición.

**Microorganismos empleados:** Se aislaron 55 cepas de *Trichoderma* (Tab. 1), siguiendo la metodología descrita por Elad *et al.*, 1981 y se mantuvieron en medio semiselectivo, de estos se realizó una selección tomando en cuenta la velocidad de crecimiento, el número de conidias viables producidas, el lugar de procedencia, el tejido y sustrato de donde fue aislado. Se utilizaron aislamientos de *R. solani* correspondientes al grupo de anastomosis AG<sub>3</sub> (Grupo de Papa-Universidad Nacional de Colombia).

**Ensayos de invernadero:** Se utilizó como material vegetal semillas de papa criolla Var. Colombia (semilla certificada) en un sustrato 2:1 de suelo y turba. La inoculación de *R. solani* se hizo de acuerdo con la metodología utilizada por Cerdeño *et al.*, (2001) y para el caso de *Trichoderma* spp. se inoculó 24 horas después de la siembra de los tubérculos y en el momento del aporque en una concentración de  $1 \times 10^5$  conidias.g<sup>-1</sup> de suelo. Para verificar el establecimiento del patógeno en el suelo se realizaron

pruebas moleculares, utilizando primers para el grupo de anastomosis AG-3 de *R. solani*. Adicionalmente se llevaron a cabo los postulados de Koch (Agrios, 2005). A los 29 días después de siembra se cuantificaron el número total de estolones emergidos del suelo, la incidencia de rizoctoniasis en estos, la longitud y el porcentaje de la lesión en tallo, tomando como 100% el perímetro del mismo para establecer el avance de la enfermedad. Una vez finalizado el ciclo de la papa criolla se realizó una evaluación poscosecha tomando peso, número y tamaño de tubérculos, porcentaje de severidad en la formación de esclerocios (James, 1971). En los análisis estadísticos se utilizó un diseño completamente al azar y pruebas de Tukey para las variables fisiológicas peso, número y diámetro, así como para los datos de cobertura y longitud de los síntomas de enfermedad.

**Pruebas de tolerancia a fungicidas:** Para este experimento se empleó validamicina, compuesto ampliamente utilizado por los productores de papa criolla para el control de esta enfermedad, con el objetivo de determinar en qué medida se ve afectado el crecimiento y desarrollo del hongo *Trichoderma* sp. cuando se hacen aplicaciones de este agroquímico (Herrera *et al.*, 2000). Para esto, las cepas del hongo se sometieron a siembras en concentraciones crecientes de validamicina hasta llegar a 2.500 ppm. Para el análisis de datos se utilizó un Andeva y pruebas de Duncan. Los datos fueron analizados en SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De 55 cepas de *Trichoderma* spp. aisladas en diversos ambientes (Tab. 1), fueron seleccionadas por la velocidad de crecimiento, el número de

conidias viables producidas, el lugar de procedencia, el tejido y sustrato de donde fueron obtenidas la cepa T41 proveniente de suelo y T51 de rizosfera de cultivos de papa criolla y T48 de suelo de potreros en la localidad de Sibaté (Cundinamarca), T07 proveniente de un cultivo de maracuyá en Cundinamarca y la cepa T96 que corresponde a una nueva especie de este género (Hoyos *et al.*, 2009a), además se probó un producto formulado a base de *Trichoderma* denominado Testigo comercial (T.Com.). Posteriormente con estos 6 aislamientos se realizaron pruebas de invernadero directamente, obviando las pruebas *in vitro*, ya que Annees *et al.* (2010) encontraron que la actividad *in vitro* de *Trichoderma* sp. contra *R. solani*, no es coincidente con la actividad *in vivo*, adicionalmente Hoyos *et al.*,

2008b, sostienen que las pruebas *in vitro* para determinar la capacidad antagónica de un microorganismo con respecto a otro en enfrentamientos en cajas de Petri (Royse y Ries, 1978), no representan necesariamente el grado de antagonismo y de control biológico en condiciones naturales, pero si la variabilidad genética del antagonista y la del fitopatógeno de invadir o crecer en una caja de Petri, por tanto pruebas directas donde se tenga en cuenta la interacción con la planta son relevantes para determinar también la efectividad de un buen aislamiento antagonista (Hoyos *et al.*, 2009b).

También es importante anotar que uno de los mecanismos por medio de los cuales *Trichoderma* puede realizar biocontrol es por la estimulación de defensas en las plantas, concretamente para controlar rizoctoniasis en papa Gallou *et al.* (2009) demostraron que en presencia de *Trichoderma* se elicitaban rutas de defensa en la planta que protegen contra el hongo fitopatógeno.

**Tabla 1.** Registro de la colección de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp. empleados en este estudio

| Aislamiento de <i>Trichoderma</i> sp. | Muestra     | Localidad                     | Sustrato   | Altura (msnm) | Temperatura promedio (°C) |
|---------------------------------------|-------------|-------------------------------|--|---------------|---------------------------|
| T 01                                  | M 21        | U. Nal. Bogotá-Cundinamarca   | Suelo invernadero                                  | 2.600         | 14                        |
| T 02                                  | M 21        | U. Nal. Bogotá-Cundinamarca   | Suelo invernadero                                  | 2.600         | 14                        |
| T 03                                  | M 21        | U. Nal. Bogotá-Cundinamarca   | Suelo invernadero                                  | 2.600         | 14                        |
| T 04                                  | M 21        | U. Nal. Bogotá-Cundinamarca   | Suelo invernadero                                  | 2.600         | 14                        |
| T 05                                  | M 21        | U. Nal. Bogotá-Cundinamarca   | Suelo invernadero                                  | 2.600         | 14                        |
| T 06                                  | M 21        | U. Nal. Bogotá-Cundinamarca   | Suelo invernadero                                  | 2.600         | 14                        |
| <b>T 07</b>                           | <b>M 22</b> | <b>Tibacuy - Cundinamarca</b> | <b><i>Passiflora edulis</i> f. <i>edulis</i></b>   | <b>1640</b>   | <b>27</b>                 |
| T 08                                  | M 2         | Soracá - Boyacá               | Rizosfera de pastos                                | 2.800         | 13                        |
| T 09                                  | M 3         | Soracá - Boyacá               | Rizosfera de pastos                                | 2.800         | 13                        |
| T 10                                  | M 3         | Soracá - Boyacá               | Rizosfera de pastos                                | 2.800         | 13                        |
| T 11                                  | M 4         | Soracá - Boyacá               | Rizosfera de pastos                                | 2.800         | 13                        |
| T 12                                  | M 5         | Soracá - Boyacá               | <i>Pisum sativum</i>                               | 2.800         | 13                        |
| T 13                                  | M 5         | Soracá - Boyacá               | <i>P. sativum</i>                                  | 2.800         | 13                        |
| T 14                                  | M 6         | Soracá - Boyacá               | Rizosfera de pastos                                | 2.800         | 13                        |
| T 15                                  | M 6         | Soracá - Boyacá               | Rizosfera de pastos                                | 2.800         | 13                        |
| T 16                                  | M 8         | Soracá - Boyacá               | Rizosfera de pastos                                | 2.800         | 13                        |
| T 17                                  | M 10        | Soracá - Boyacá               | <i>P. sativum</i>                                  | 2.800         | 13                        |
| T 18                                  | M 10        | Soracá - Boyacá               | <i>P. sativum</i>                                  | 2.800         | 13                        |
| T 19                                  | M 11        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 20                                  | M 12        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 21                                  | M 12        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 22                                  | M12         | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 23                                  | M 14        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 24                                  | M 15        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T25                                   | M 15        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 26                                  | M 16        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 27                                  | M 16        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 28                                  | M 17        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 29                                  | M 18        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 30                                  | M 19        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 31                                  | M 19        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 32                                  | M 20        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 33                                  | M 20        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.800         | 13                        |
| T 34                                  | M 20        | Soracá - Boyacá               | <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>           | 2.600         | 14                        |
| T 35                                  | M 26        | Sibaté - Cundinamarca         | Rizosfera <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i> | 2.600         | 14                        |
| T 36                                  | M23         | Sibaté - Cundinamarca         | Suelo <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>     | 2.600         | 14                        |
| T 37                                  | M 24        | Sibaté - Cundinamarca         | Suelo <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>     | 2.600         | 14                        |
| T 38                                  | M 25        | Sibaté - Cundinamarca         | Suelo <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>     | 2.600         | 14                        |
| T 39                                  | M 25        | Sibaté - Cundinamarca         | Suelo <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>     | 2.600         | 14                        |

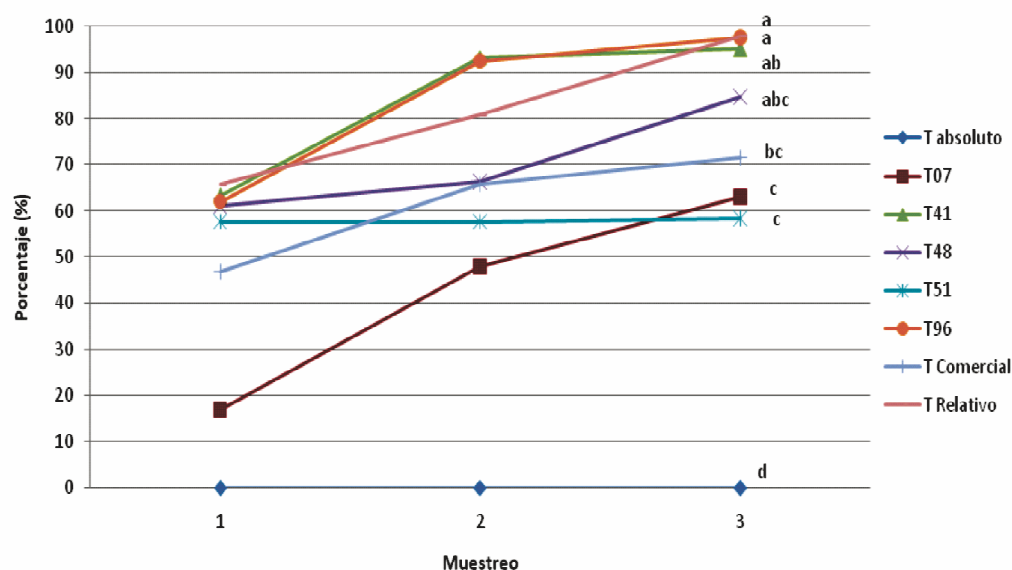
| Aislamiento de <i>Trichoderma</i> sp. | Muestra     | Localidad                    | Sustrato  | Altura (msnm) | Temperatura promedio (°C) |
|---------------------------------------|-------------|------------------------------|---|---------------|---------------------------|
| T 40                                  | M 25        | Sibaté - Cundinamarca        | Rizosfera <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>        | 2.600         | 14                        |
| <b>T 41</b>                           | <b>M 25</b> | <b>Sibaté - Cundinamarca</b> | <b>Suelo <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i></b>     | <b>2.600</b>  | <b>14</b>                 |
| T 42                                  | M 26        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>            | 2.600         | 14                        |
| T 43                                  | M 26        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>            | 2.600         | 14                        |
| T 44                                  | M 27        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>            | 2.600         | 14                        |
| T 45                                  | M 27        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i>            | 2.600         | 14                        |
| T 46                                  | M 29        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo <i>S. tuberosum</i>                                 | 2.600         | 14                        |
| T 47                                  | M 29        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo <i>S. tuberosum</i>                                 | 2.600         | 14                        |
| <b>T 48</b>                           | <b>M 30</b> | <b>Sibaté - Cundinamarca</b> | <b>Suelo de pastos</b>                                    | <b>2.600</b>  | <b>14</b>                 |
| T 49                                  | M 30        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo de pastos   | 2.600         | 14                        |
| T 50                                  | M 30        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo de pastos   | 2.601         | 14                        |
| <b>T 51</b>                           | <b>M 30</b> | <b>Sibaté - Cundinamarca</b> | <b>Rizosfera <i>S. tuberosum</i> grupo <i>phureja</i></b> | <b>2.600</b>  | <b>14</b>                 |
| T 52                                  | M 31        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo de pastos   | 2.600         | 14                        |
| T 53                                  | M 31        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo de pastos   | 2.600         | 14                        |
| T 54                                  | M 31        | Sibaté - Cundinamarca        | Suelo de pastos   | 2.600         | 14                        |
| T 55                                  | M 31        | Sibaté - Cundinamarca        | Rizosfera pastos  | 2.600         | 14                        |
| <b>T 96</b>                           |             | <b>Valledupar-Cesar</b>      | <b>Arena de río</b>                                       | <b>100</b>    | <b>28</b>                 |

\* aislamientos en cursiva son aquellos seleccionados para pruebas en invernadero

**Incidencia de la enfermedad y avance de lesiones:** En la Fig. 1 se detalla la incidencia de la enfermedad sobre tallo, mostrando diferencias significativas entre los tratamientos ( $Pr < 0,0001$ ). Se observa que los valores más altos al cabo de los 43 días después de siembra expresados en porcentaje, son de 98% (T. Relativo: plantas inoculadas), 97,5% (T96) y 95% (T41), seguido por un grupo de aislamientos que presentaron valores de 84,7%, 71,5%, 63% y 58,3% correspondientes a los tratamientos T48, T. Comercial, T07 y T51 respectivamente. El comportamiento de la curva de incidencia durante el transcurso del tiempo de la experimentación, no presenta una tendencia lineal, lo que se puede evidenciar comparando los valores registrados a los 29 días después de siembra (dds), 36 dds, y 43 dds, posiblemente la emergencia de nuevos brotes o tallos que no fueron afectados por la enfermedad en algunos tratamientos, caso concreto sucede con el aislamiento T51, mientras que en los aislamientos T41

y T. Comercial. la pendiente de la curva toma un valor negativo a partir de la segunda observación (36 dds).

La prueba de Tukey revela que existen diferencias entre los tratamientos con mejores resultados en control (incidencias bajas) para los aislamientos T07, T51, seguidos por T. Comercial y T48, mientras que los aislamientos T96, T41 y T. Relativo presentaron un comportamiento similar, pero se observa un mayor avance de la enfermedad. En lo que respecta a la cobertura de las lesiones alrededor del tallo, los valores más altos se encuentran en los tratamientos T41, T96 y T. Relativo con valores de 63,2%, 57,2% y 43,6% respectivamente al cabo de los 43 dds mientras que los valores más bajos se evidenciaron en los tratamientos T 48, T 51, T 07 y T.Comercial. con porcentajes de cobertura de lesiones de 30,8%, 26,9%, 25,9% y 21,6% respectivamente, mostrando diferencias significativas ( $Pr < 0,0001$ ) entre tratamientos.



**Figura 1.** Incidencia de Rizoctoniasis en tallos de papa criolla (tratamientos con letra diferente presentan diferencias estadísticas significativas Tukey:  $Pr < .0001$ ).

Los altos valores de la incidencia de la enfermedad en los diferentes tratamientos se deben a un eficiente establecimiento del patógeno en el suelo en el momento de la inoculación, teniendo en cuenta que *R. solani* tiene la capacidad saprofita y de parasito facultativo (Spadaro y Lodovica, 2005), además que la proximidad de los tejidos de la planta a la fuente de inóculo, permitió la colonización de los estolones produciendo chancros en el tallo e infecciones. A su vez, el antagonista *Trichoderma* spp., enfrenta problemas de establecimiento en el sustrato, generando reducción de la acción antagónica, creándose así condiciones que permiten el desarrollo y aparición de síntomas de la enfermedad. En los tratamientos T51 y T07 hubo una reducción en la incidencia de la enfermedad en un 21,7% y 26,4% respectivamente en comparación con el T. Relativo. En la Fig. 3 se puede observar la proporción de tallos afectados vs. los tallos que no presentaron síntomas para cada uno de los tratamientos. El tratamiento que presentó mejor resultado en términos de proporción de tallos

sanos fue T07 y T51, mientras que el tratamiento con mayor proporción de tallos afectados fue el T41, T96 y el T. Relativo.

**Formación de esclerocios:** Para esta variable hubo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, según la prueba de Tukey los tratamientos que mostraron menor biocontrol de la enfermedad fueron T. Relativo (7,47), T96 (5,03) y T. Comercial (4,05), mientras que T07 (3,08), T41 (2,84), T48 (2,6) y T51 (1,21) mostraron los mejores resultados. Vale la pena resaltar que los porcentajes de infección sobre tubérculo o escala de severidad no supera el 15% indicando que los aislamientos correspondientes a T51, T48 y T41, reducen el índice de severidad en un 83,8%, 65,2% y 61,9% respectivamente, comparándolos con el T. Relativo, estos aislamientos provienen de zonas de cultivos de papa criolla. Estos resultados son similares y en algunos tratamientos superan los resultados obtenidos por Beltrán y Garcés (2005) en donde lograron la reducción de la enfermedad hasta un 50%, mediante el parasitismo y posterior

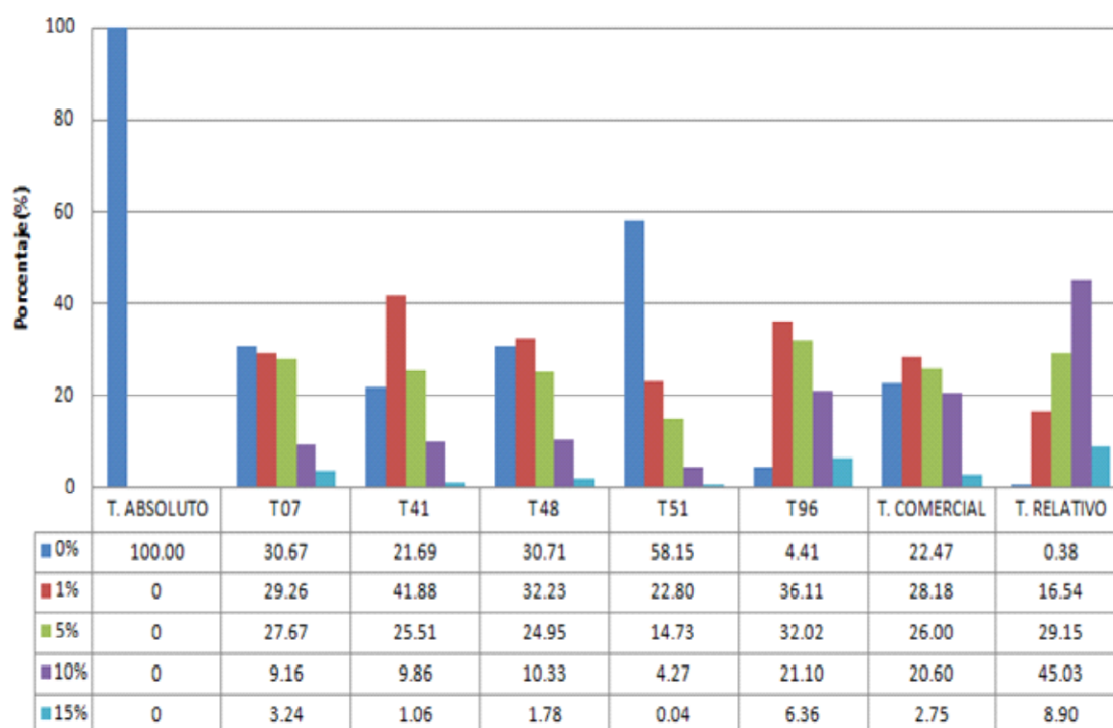
degradación de los esclerocios producidos en papa, por parte de *Trichoderma* spp.

Los resultados muestran diferentes grados la infección sobre el tubérculo (esclerocios) en los tratamientos, posiblemente por la variabilidad genética y hábitats naturales de las especies de *Trichoderma* que se refleja en la heterogeneidad en el metabolismo de las diferentes cepas. Una vez establecida la cepa de *Trichoderma* en el sustrato, comienza el reconocimiento y actividad enzimática permitiendo la colonización del hongo patógeno y ejercer el biocontrol.

**Evaluación Poscosecha:** Según el análisis estadístico no se presentaron diferencias significativas en las variables fisiológicas como en el peso los tubérculos producidos por las plantas con los diferentes tratamientos ( $Pr > 0,4364$ ), en el

número de tubérculos ( $Pr > 0,2611$ ) y diámetros ( $Pr > 0,1681$ ). En lo que respecta al índice de severidad de la enfermedad sobre la calidad de tubérculo o formación de esclerocios, el análisis estadístico refleja diferencias significativas ( $Pr < 0,0001$ ) frente a *R. solani*. Los mejores resultados (mayor número de tubérculos con menores porcentajes de severidad), se obtuvieron con los tratamientos T 51 y T 48 seguido por T 41 y T 07 (Fig. 2 y 3).

En el presente estudio es coincidente la actividad de control sobre rizoctoniasis y mejores indicadores en poscosecha, contrario a lo obtenido por Wilson *et al.*, 2008, para quienes la aplicación con *Trichoderma* disminuye en número de tubérculos, por tanto los aislamientos probados en el presente estudio presentan ambos beneficios.



**Figura 2.** Proporción de tubérculos de papa criolla con diferentes grados de severidad de rizoctoniasis en los tratamientos inoculados con *Trichoderma*



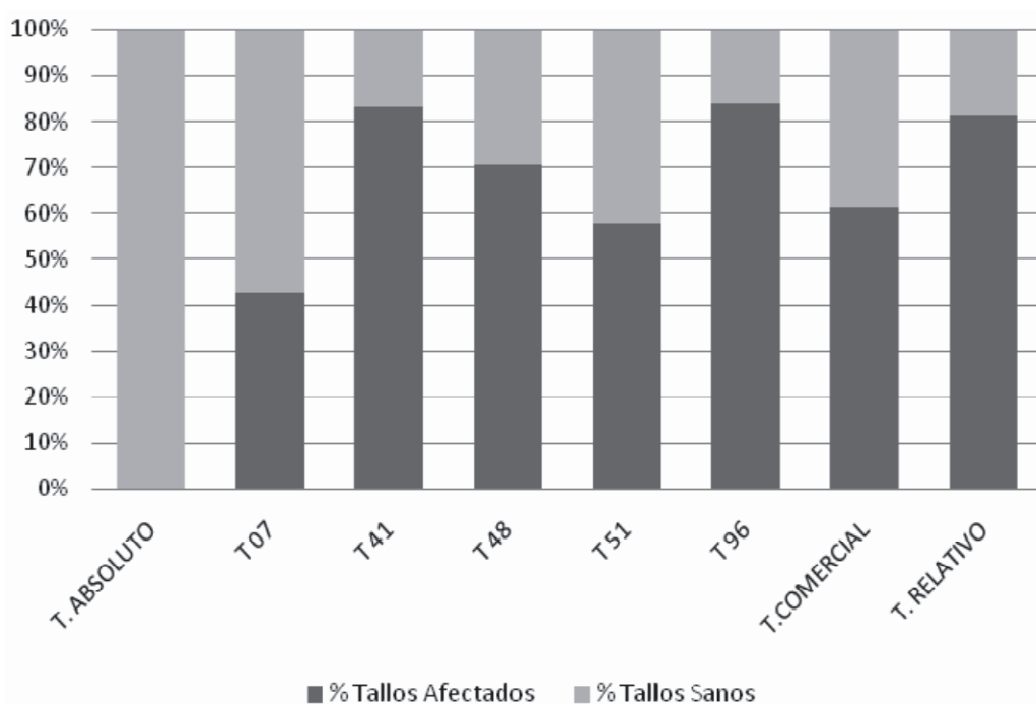


Figura 3. Proporción de tallos afectados por *R. solani* vs. Tallos sanos en los diferentes tratamientos con *Trichoderma*.

**Tolerancia a fungicidas:** A las 72 horas luego de la siembra de *Trichoderma* se observa crecimiento de todos los aislamientos utilizados en el tratamiento sin fungicida hasta el punto de ocupar la mayoría de la caja Petri, y la prueba de Duncan indica un comportamiento similar en los aislamientos T07, T48, T96 y T51, pero si hubo diferencia en cuanto al crecimiento de los aislamientos T41 y T. Com. El crecimiento del antagonista en medio con fungicida se explica como la tolerancia a sustancias de síntesis químicas como herbicidas, fungicidas y metabolitos tóxicos producidos por otros organismos, asociada a un alto número de transportadores ABC (De Ward, 1997). Los sistemas de transporte ABC son sistemas asociados a la membrana con presencia de proteínas que encapsulan las moléculas y la ingresan o exportan de la célula, es un transporte entre membranas y es de tipo activo en contra del gradiente. Este sistema

de transporte confiere a *Trichoderma* spp mayor tolerancia a compuestos como fitoalexinas, flavonoides, terpenoides y derivados fenólicos y es considerada un requerimiento esencial para la colonización efectiva de raíces de plantas y sustratos (Chaparro *et al.*, 2011).

## CONCLUSIONES

En cuanto a disminución de la incidencia de la rizoctoniasis determinada como número de estolones afectados versus el testigo, los aislamientos T-51 (rizosfera de papa criolla), T-48 (suelo de pastos), T-07 (suelo de maracuyá) y el testigo comercial presentaron los menores valores, siendo estos provenientes de sistemas papeiros y de un cultivo de maracuyá, por otro lado los aislamientos T-41 y T96, respectivamente aislados de suelo de papa criolla y de arena

de río en el departamento del Cesar, mostraron valores similares de incidencia al testigo relativo (plantas inoculadas sin aplicación de control), por tanto en términos de incidencia el origen del aislamiento no es una característica que haya resultado representativa para las condiciones experimentales empleadas. Las cepas nativas como probables agentes de biocontrol eficientes pueden ser posibles, pero también las foráneas o no propias del agroecosistema, pues en el caso de T07, ya que bajo su aplicación se obtuvieron tubérculos con menores porcentajes de severidad, además el establecimiento en suelo.

De forma general puede afirmarse que los tratamientos T07, T48 y T51 mostraron los mejores resultados para las variables de sanidad y fisiología de la planta evaluada durante este ensayo, siendo más eficientes en el proceso de adaptación y colonización del sustrato que cepas como T96 (procedente de Valledupar), T. Comercial y el T. Relativo. Los aislamientos que resultaron tener actividad notoria de biocontrol, además son aislamientos con tolerancia a fungicidas (Validamicina), abriendo la posibilidad de que cuando sean aplicados en ambientes donde existan trazas de este tipo de fungicidas su población no va decaer.

Por último la selección o tamizaje de aislamientos de biocontrol teniendo en cuenta la planta y el patógeno son un paso fundamental en la protección de cultivos, ya que la generalización de acción por origen del aislamiento del biocontrolador (cepas nativas) no garantiza su efectividad, la capacidad antagónica de un aislamiento depende de sus características metabólicas (enzimas, antibióticos, etc.), adaptación al medio y afinidad con la especie hospedera.

## AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por FONTAGRO, la Corporación PBA y la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

## BIBLIOGRAFÍA

AGRIOS, G. 2005. Plant pathology. 5th ed. Amsterdam, Neederlands. Elsevier Academic Press publications. 952 p.

ANEES, M.; TRONSMO, A.; EDEL-HERMANN V.; HJELJORD, L.; HERAUD, C., Y STEINBERG, C. 2010. Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. Fungal biology 114(9):691-701

BELTRÁN, C., Y GARCÉS, E. 2005. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. con potencial biocontrolador de *Rhizoctonia solani* kühn. en papa bajo condiciones de casa de malla. Acta Biológica Colombiana, Vol. 10 No. 1, 2005.

CERDEÑO, L.; CARRERO, C.; QUINTERO, K.; ARAUJO, Y.; PINO, H. y GARCÍA, R. 2001. Identificación y virulencia de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kuhn asociados con papa en Mérida, Venezuela. Interciencia 26 (7), 295-300.

CHAPARRO, P.; HOYOS-CARVAJAL, L. y ORDUZ, S. 2011. Fungicide tolerance of *Trichoderma asperelloides* and *T. harzianum* strains. Agricultural Sciences. 2(3): 301-307.

DE WAARD, M.A. 1997. Significance of ABC transporters in fungicide sensitivity and resistance. Pesticide Science. 51: 271-275.

ELAD, Y.; CHET, I., Y HENIS, Y. 1981. A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. Phytoparasitica 11: 55-58.

- GALLOU, A., CRANENBROUCK, S. y DECLERCK, S. 2009. *Trichoderma harzianum* elicits defence response genes in roots of potato plantlets challenged by *Rhizoctonia solani*. European Journal of Plant Pathology 124: 219-230.
- HERRERA, C.; FIERRO, L. y J. MORENO. 2000. Manejo integrado del cultivo de la papa. Manual técnico. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Corpoica. Mosquera. 195 p.
- HOWELL, C. R. 2006. Understanding the Mechanisms Employed by *Trichoderma virens* to Effect Biological Control of Cotton Diseases. Phytopathol. 96:178-180
- HOYOS-CARVAJAL, L.; CHAPARRO P.; ABRAMSKY M.; CHET, I. Y ORDUZ, S. 2008a. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. Agronomía Colombiana 26(3): 451-458.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; DUQUE, G y ORDUZ, S. 2008b. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. 2(1):76-86.
- HOYOS-CARVAJAL L., S. ORDUZ y BISSETT, J. 2009a. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropical regions. Fungal Genetics and Biology 46: 615-631.
- HOYOS-CARVAJAL, L.M.; ORDUZ, S. y BISSETT, J. 2009b. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. Biological Control. 51 (2009) 409-416.
- JAMES, C. 1971. A manual of assessment keys for plant diseases. The American Phytopathological Society. E.E.U.U. Key No 34.
- LEWIS, J. y LUMSDEM, D. 2001. Biocontrol of damping off of greenhouse-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. Crop protection 20:49-56
- ROYSE, D.J. y S.M. RIES. 1978. The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. Phytopathology 68: 603-607.
- SAVAZZINI, F.; OLIVEIRA LONGA, C. M, Y PERTOT, I. 2009. Impact of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* SC1 on soil microbial communities of a vineyard in northern Italy Soil Biology & Biochemistry 41:1457-1465.
- SCHERM, B.; SCHMOLL, M., BALMAS, V.; KUBICEK, C. y MIGHELLI, Q. 2009 Identification of potential marker genes for *Trichoderma harzianum* strains with high antagonistic potential against *Rhizoctonia solani* by a rapid subtraction hybridization approach. Current Genetics 55(1): 81-91.
- SPADARO, D. Y LODOVICA M. 2005. Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. Crop protection 24; 601-613.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAMB, S.; GHISALBERTIC, E.L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; L. 2008. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. Soil Biology & Biochemistry 40: 1-10
- WILSON, P.; KETOLA, O.; AHVENNIEMI, P.M.; LEHTONEN, M. J. y VALKONENPLANT, J. 2008. Dynamics of soilborne *Rhizoctonia solani* in the presence of *Trichoderma harzianum*: effects on stem canker, black scurf and progeny tubers of potato. Pathology 57(1):152-161

