

Agentes biocontroladores para manejo de fitopatógenos de suelo y mosca blanca en pimiento. “capsicum annum”.

Diego Enrique Portalanza Peralta, Leticia Vivas Vivas

Biological control agents for the soil pathogen management and whitefly on bell pepper crop. “Capsicum annum”.

Resumen

El cultivo de pimiento (*Capsicum annum* L.), es afectado por fitopatógenos causantes del complejo marchitez e insectos plaga como mosca blanca, *Bemisia tabaci*, vector de algunos virus por ejemplo los Geminivirus. Los objetivos específicos fueron: 1) Determinar dosis y frecuencias de aplicación de *T. asperellum* sobre el complejo marchitez del pimiento, y 2) Determinar dosis y frecuencias de aplicación de *B. bassiana* para el manejo de *Bemisia tabaci*.

En ambos estudios se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones y para la comparación de las medias se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan $p = 0.05$.

Los causales de la marchitez del pimiento fueron: *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Sclerotium rolfsii* y *Ralstonia solanacearum*.

La menor severidad fue en el tratamiento *T. Asperellum* 45x106 esporas/L aplicado 7 días después del transplante.

En el estudio de dosis y frecuencias de aplicación de *B. bassiana* para el manejo de *B. tabaci*, la dosis 1x106 de *B. bassiana* aplicado diez días después del transplante mostró la menor presencia de mosca blanca por planta. Los mejores rendimientos se dieron en los tratamientos *B. bassiana* aplicado 10 días después del transplante en dosis de uno y diez millones de esporas con un promedio de 14 y 13TM en su orden.

Palabras claves: *Trichoderma asperellum*, *Beauveria bassiana*, fitopatógeno, *S. rolfsii*, *Rizhoctonia solani*.

Summary

The bell pepper crop (*Capsicum annum* L.), is affected by plant pathogens that cause the wilt complex, plague insects such as whitefly, *Bemisia tabaci*, vector of some viruses e.g. Geminiviruses. The specific objectives were: 1) to determine doses and frequencies of application of *T. asperellum* over bell pepper wilt complex, and 2) to determine doses and frequencies of application of *B. bassiana* for *Bemisia tabaci* management.

In both studies a completely randomly plot design with three replicates was used and the Duncan multiple range test $p = 0.05$ was used for the means comparison.

The bell pepper wilt was caused by: *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Sclerotium rolfsii* y *Ralstonia solanacearum*.

The lower severity was observed with *T. Asperellum* 45 x 106 spores/L applied 7 days after the transplant.

In the study of doses and frequencies of application of *B. bassiana* for the *B. tabaci* management, 1x106 applied ten days after the transplant dose showed the lowest presence of white fly per plant. The best yields were *B. bassiana* applied 10 days after the transplant at a dose of one and ten million spores with an average of 14 and 13TM.

Key words: whitefly, Geminiviruses, wilt complex.

Introducción

El cultivo de pimiento (*Capsicum annum* L.) es una solanácea de importancia para la alimentación debido a su alto contenido de vitaminas A y C, por su sabor y palatabilidad es acompañante de diversos platos en la gastronomía ecuatoriana (Cheme, 2002). Según datos del III Censo Nacional Agropecuario en el Ecuador existe un total de 1145 hectáreas sembradas de pimiento solo o asociado, Guayas ocupa un 26,8% de esta superficie con 308 hectáreas con una producción aproximada de 800 TM (SICA, 2002).

El cultivo es afectado por fitopatógenos que causan enfermedades como el complejo de marchitez e insectos plaga, los causales de la marchitez se reportan: *Ralstonia solanacearum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* sp, *Macrophomina Phaseolina*; y entre los insectos plaga, mosca blanca *Bemisia tabaci*, vector de algunos virus como el Geminivirus, para el manejo de estos problemas el productor utiliza agroquímicos de diferentes categorías toxicológicas, realizando alrededor de 23 aplicaciones por ciclo de cultivo, lo que contribuye al aumento en los costos de producción, y resistencia a los plaguicidas (Carvajal, 1997). Por otra parte, los consumidores cada vez exigen productos limpios y también se debe proteger el agroecosistema.

Debido a los problemas en la salud de consumidores, productores y del agroecosistema por el abuso de agroquímicos, estos productos de síntesis utilizados en la agricultura son los responsables de la contaminación de las aguas necesarias para la vida humana; una alternativa para reducir estos problemas es el uso de agentes de biocontrol, por ser más específicos sobre los microorganismos objetos de control; además, se requiere la integración de tratamientos fitosanitarios con técnicas agronómicas modernas (Regnault-Roger, 2004).

Con estos antecedentes, y teniendo en cuenta que existen hongos antagonistas y entomopatógenos en nuestros suelos que pueden ejercer un control biológico más eficiente, la presente investigación tuvo los siguientes objetivos:

- 1) Determinar dosis y frecuencias de aplicación de *Trichoderma asperellum* sobre el complejo marchitez del pimiento.
- 2) Determinar dosis y frecuencias de aplicación de *Beauveria Bassiana* para el manejo de *Bemisia tabaci*.

Materiales y métodos

2.1. ENSAYO 1

2.1.1 Obtención de *Trichoderma asperellum*.

El antagonista evaluado fue *T. asperellum* procedente de Guayas con código G-008 proporcionado por el DNPV-Fitopatología INIAP EELS1. Este fue multiplicado masivamente en arroz esterilizado, para este propósito se inoculó por cada 200 gramos de arroz 5 ml de la suspensión agua-hongo, se dejó en incubación durante 10 días, después se procedió al secado en una incubadora, luego fue almacenado en una refrigeradora para su posterior aplicación en el campo.

2.1.2. Frecuencias y dosis

La frecuencia de aplicación fue al momento del transplante y 7 días después del transplante. Se evaluaron 3 dosis 15x10⁶, 30x10⁶ y 45x10⁶ esporas/litro de agua. De *T. asperellum* cepa G-008

2.1.3. Tratamientos

El número de tratamientos, (Cuadro 1) dosis y frecuencias de aplicación se detallan a continuación:

2.1.4. Diseño y análisis de varianza

En los dos ensayos (Cuadro 2), los datos fueron analizados con un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con tres repeticiones. El esquema del análisis de varianza fue el siguiente:

Cuadro 1: Dosis y frecuencias de aplicación de *T. asperellum*

| No. | Dosis | Frecuencias de aplicación |
|-----|---|--------------------------------|
| 1 | Testigo absoluto | Al momento de transplante |
| 2 | Testigo químico | Al momento de transplante |
| 3 | Testigo biológico comercial (GP) | Al momento de transplante |
| 4 | <i>T. asperellum</i> 15x10 ⁶ esporas por litro | Al momento de transplante |
| 5 | <i>T. asperellum</i> 30x10 ⁶ esporas por litro | Al momento de transplante |
| 6 | <i>T. asperellum</i> 45x10 ⁶ esporas por litro | Al momento de transplante |
| 7 | <i>T. asperellum</i> 15x10 ⁶ esporas por litro | 7 días después del transplante |
| 8 | <i>T. asperellum</i> 30x10 ⁶ esporas por litro | 7 días después del transplante |
| 9 | <i>T. asperellum</i> 45x10 ⁶ esporas por litro | 7 días después del transplante |

Cuadro 2: Análisis de varianza, ensayos 1 y 2

| Fuentes de variación | GL | |
|---------------------------|------------|----|
| Total | (tr-1) | 26 |
| Tratamientos | (t-1) | 8 |
| Repeticiones | (r-1) | 2 |
| Error Experimental | (t-1)(r-1) | 16 |

Para la comparación de las medias se usó la prueba de rangos múltiples de Duncan $p= 0.05$

2.1.5. Identificación del causal

Para identificar el o los agentes causales de marchitez se colectó muestras de tallos, raíces y suelo de la rizósfera, los mismos que fueron llevados al laboratorio de Fitopatología de la E.E. E. del Litoral Sur, del INIAP para su respectivo aislamiento e identificación.

La identificación de los causales presentes en tejidos vegetales se realizó mediante observación directa, en muestras acondicionadas en cámara húmeda y aislamientos de tejidos infectados. También se sembró suelo en medios de cultivo para aislar él o los fitopatógenos.

La observación directa consistió en adherir un pedazo de cinta adhesiva transparente en el tejido infectado y se puso en un portaobjeto al que previamente se colocó una gota de ácido láctico. En el caso necesario se realizó una cámara húmeda con las muestras de tejidos vegetales, que consistió en colocarlas en una funda plástica que contenía papel absorbente humedecido con agua estéril y se dejó por 72 horas.

También se procedió a efectuar el aislamiento en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA). Estas muestras fueron previamente desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 1% y enjuagadas tres veces con agua destilada estéril para eliminar residuos de cloro y evitar que afecten el normal crecimiento de los patógenos.

Para comprobación del antagonista, se aisló de las muestras de suelo, que consistió en tomar un gramo y se depositó en 100 ml de agua destilada estéril, se diluyó hasta la 10^{-3} y fue sembrado en medio de cultivo PDA.

2.2. ENSAYO 2

2.2.1. Obtención de *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana fue suministrada por DNPV-Fitopatología de la EELS del INIAP, ésta se multiplicó masivamente en arroz esterilizado, para este propósito se inoculó por cada 200 gramos de arroz 5 ml de la suspensión agua-hongo, se dejó en incubación durante 10 días, después se procedió al secado en una incubadora, luego fue almacenada en una refrigeradora para su posterior aplicación en el campo.

Cuadro 3: Dosis y frecuencias de aplicación de *B. bassiana*

| No. | Dosis de aplicación | Frecuencia de aplicación |
|-----|--|--|
| 1 | Testigo absoluto | Sin aplicación |
| 2 | Testigo químico | Acetamiprid |
| 3 | Testigo biológico comercial | De acuerdo a la presencia del insecto. |
| 4 | <i>B. bassiana</i> 1x10 ⁶ | 5 días después del transplante |
| 5 | <i>B. bassiana</i> 10 x10 ⁶ | 5 días después del transplante |
| 6 | <i>B. bassiana</i> 1x10 ⁶ | 10 días después del transplante |
| 7 | <i>B. bassiana</i> 10x10 ⁶ | 10 días después del transplante |
| 8 | <i>B. bassiana</i> 1x10 ⁶ | 15 días después del transplante |
| 9 | <i>B. bassiana</i> 10x10 ⁶ | 15 días después del transplante |

2.2.2. Dosis y Frecuencias

Se evaluaron 2 dosis de *Beauveria bassiana* que fueron 1x10⁶ esporas/ mililitro y 10x10⁶ esporas/ mililitro. (Cuadro 3)

La frecuencia de aplicación fue a los 5, 10 y 15 días después del transplante.

2.2.3 Tratamientos

El estudio constó de 9 tratamientos, en el que se incluyen tres testigos: un químico, un biológico comercial y un absoluto, dos dosis y frecuencia de aplicación de *B. bassiana*, los mismos se detallan a continuación:

Resultados y discusión

3.1. Microorganismos causales de la marchitez

En el estudio de eficacia de *T. asperellum* sobre el complejo marchitez del pimiento se identificó a *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. *S. rolfsii*, y *R. solanacearum*, microorganismos que coinciden

con los causales de la marchitez de tomate reportados por Cevallos (2010). En la **Figura 1** los tratamientos con mayor porcentaje de *Fusarium* sp. fueron los de 45 millones de esporas al transplante y 7 días después.

En la **Figura 2** se observa que el tratamiento 7 (*T. asperellum* 30 x 10⁶) tuvo el mayor porcentaje de *Rhizoctonia* sp. y fue estadísticamente diferente de los demás tratamientos. En lo que respecta a la no presencia de este en el testigo absoluto probablemente se deba a que la distribución de los fitopatógenos no es uniforme en el suelo.

En la **Figura 3** se observa en todos los tratamientos que *S. rolfsii* fue mayormente aislado de tejido, sin embargo los valores más altos fueron en los tratamientos 2, 5 y 3.

En la **Figura 4** se observa que en los tratamientos 6, 5 y 4 tuvieron mayores porcentajes de *T. asperellum* en muestras de suelo.

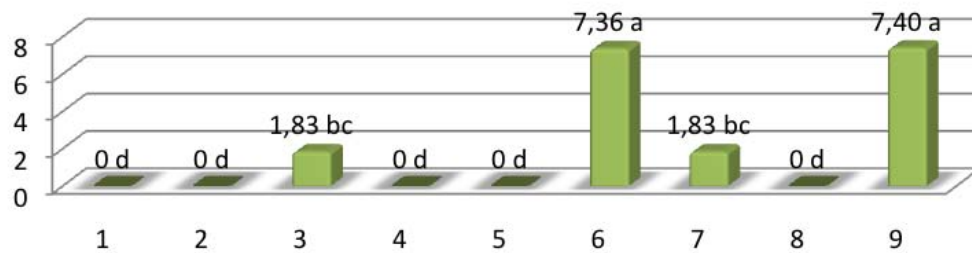


Figura 1: Porcentaje promedio de *Fusarium* sp. aislado de tejido. INIAP-EELS, 2010.

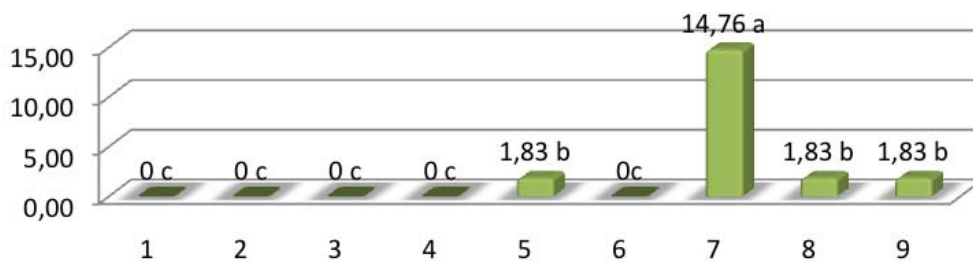


Figura 2: Porcentaje promedio de *Rhizoctonia* sp. aislado de tejido. INIAP-EELS, 2010.

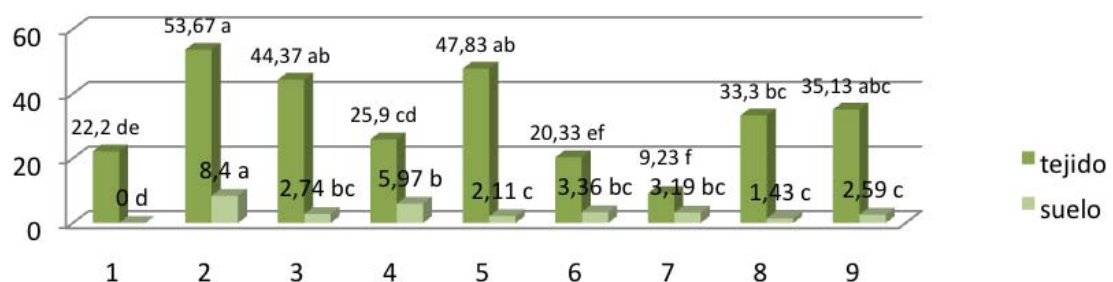


Figura 3: Porcentaje promedio de *Sclerotium rolfsii* aislado de tejido y suelo. INIAP-EELS, 2010

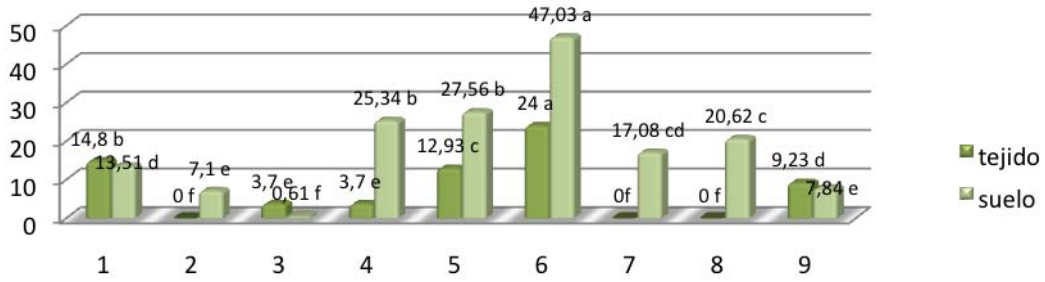


Figura 4: Porcentaje promedio de Trichoderma asperellum aislado de tejido y suelo. INIAP-EELS, 2010

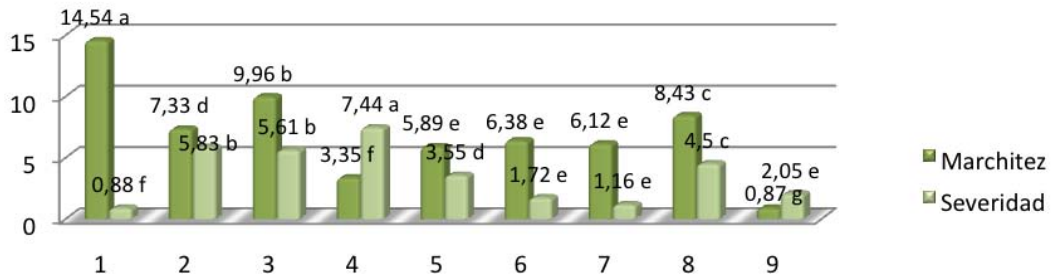


Figura 5: Incidencia y severidad de plantas con marchitez. INIAP-EELS, 2010.

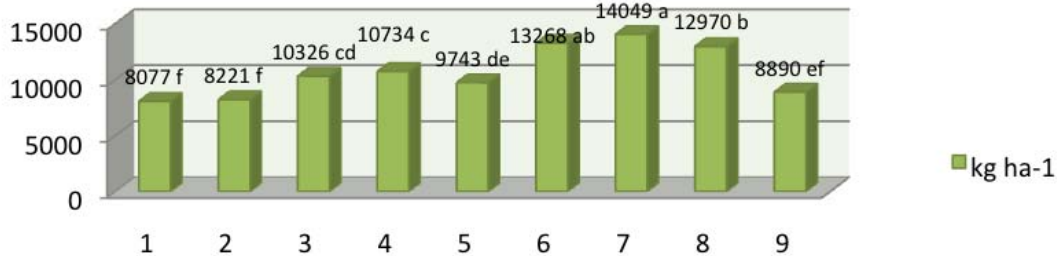


Figura 6: Promedio general de presencia de Bemisia tabaci. INIAP-EELS, 2010

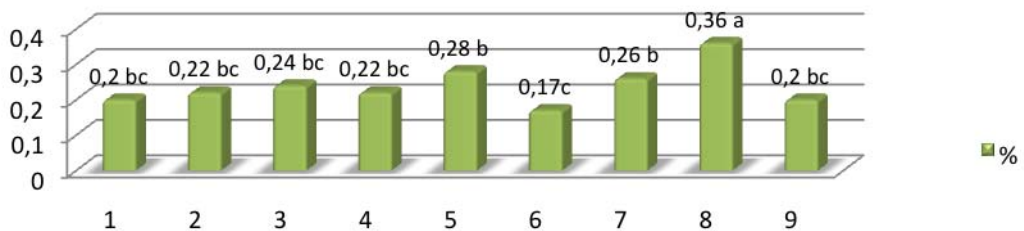


Figura 7: Rendimiento promedio de pimiento kg ha-1 en el ensayo de eficacia de B. bassiana sobre Bemisia tabaci. INIAP-EELS, 2010.

De acuerdo a la presencia de *Trichoderma* en el tratamiento testigo demuestra que este biocontrolador esta en forma nativa en el suelo, información que se relaciona con Reyes et al (2002) quienes mencionan que *T. harzianum* es eficiente contra *S. rolfsii*, *Rhizoctonia solani* entre otros y que las plantas de tomate fueron tratadas con este microorganismo no presentaron síntomas con relación a las parcelas testigo.

Incidencia y severidad

En la **Figura 5** observan los porcentajes promedio de incidencia y severidad de plantas con marchitez en cada uno de los tratamientos con dosis y frecuencias de aplicación de *Trichoderma asperellum*. El tratamiento 9 que contenía *T. asperellum* 45x106 esporas por litro aplicado 7 días después del trasplante tuvo 0,87% de plantas marchitas y fue diferente a los demás tratamientos; seguido por el tratamiento 4 con 3,35% diferente de los demás. El valor más alto se observó en el testigo absoluto con 14,54% de plantas afectadas.

En cuanto a severidad los tratamientos 7 y 6 tuvieron los menores valores con 1,16 y 1,72% en su orden e iguales entre sí; el mayor porcentaje fue en el tratamiento 4 con 7,44 diferente de los demás tratamientos, seguido de los testigos químico y biológico comercial con 5,83 y 5,61% respectivamente e iguales estadísticamente entre si.

Beauveria bassiana

En el estudio de eficacia de *B. bassiana*, la presencia de *B. tabaci* las poblaciones fueron bajas, posiblemente debido a las condiciones de temperatura, aunque un estudio efectuado en Costa Rica por Arias e Hilje (1993) demuestran que no existe relación entre el número de adultos y la temperatura; por otra parte estos autores mencionan que la mayor actividad de vuelo del insecto está entre 6:30 a 8:30 y entre las 15:30 a 17:30 con una notoria reducción entre las 10:30 a 13:30 lo que podría estar relacionada con los resultados de esta investigación ya que las evaluaciones siempre se realizaron entre las 9:00 a 12:00. Por otra parte, el estudio de Jovel et al (2000) observaron que el máximo de adultos posados sobre plantas de tomate se observó a las 8:00 después de lo cual hubo una declinación progresiva hasta cerca del mediodía, seguido por un leve incremento durante la tarde y un decremento final.

Las dosis de *B. bassiana* de 1 x 106 y 1 x 108 esporas por litro aplicado 10 días después del trasplante, tuvieron los mejores rendimientos y una densidad de 0,26 y 0,17 adultos de *B. tabaci* por planta, no se observaron otros insectos en el cultivo lo que posiblemente esté relacionado con las aplicaciones oportunas de este hongo entomopatógeno. Estos resultados se relacionan con el estudio Orozco-Santos et al (2000) en melón, quienes reportan que en parcelas testigos los daños fueron del 100% en los testigos sin aplicación con respecto a las plantas tratadas con una formulación comercial de *B. bassiana*.

Conclusiones

En base a los resultados se concluye que en estudio de eficacia de *Trichoderma asperellum* los causales de la marchitez aislados de suelo y tejido fueron *Fusarium sp*, *Rhizoctonia sp*, *Sclerotium rolfsii* y *Ralstonia solanacearum*.

El tratamiento testigo absoluto presentó la mayor incidencia de plantas marchitas con 14,54% y la severidad fue 0,88 %, la menor incidencia fue en el tratamiento *T. Asperellum* 45x106 esporas/L aplicado 7 días después del trasplante con 0,87%. La mayor severidad de daño se presentó en el tratamiento *T. Asperellum* 15x106 esporas/L aplicado al momento del trasplante con 7,44%.

En el estudio de dosis y frecuencias de aplicación de *B. bassiana* para el manejo de *B. tabaci* la densidad poblacional de mosca blanca fue baja.

Los mejores rendimientos se dieron en los tratamientos *B. bassiana* aplicado 10 días después del trasplante en dosis de uno y diez millones de esporas con un promedio de 14 y 13TM en su orden.

Recomendaciones

Realizar estudios frecuencias y dosis de *T. asperellum* y *B. bassiana* en otras épocas de siembra y otros climas para comprobar su efectividad. Efectuar estudios de patogenicidad de otros hongos entomopatógenos y antagonistas para el control de fitopatógenos e insectos plaga.

Capacitar a productores sobre el uso de agentes de biocontrol para evitar el uso indiscriminado de pesticidas de síntesis químico.

Bibliografía

1. Arias, R. y Hilje L. 1993. Actividad diaria de los adultos de Bemisia tabaci (Gennadius) en tomate y hospedantes alternos del insecto. En Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 28 p 20 - 2
2. Carvajal, T. 1997. El manual de Cultivos Hortícolas. (Estación Experimental Portoviejo). p 5.
3. Cevallos, S. 2010. Estudios de eficacia de Trichoderma cepa G-08 sobre el complejo de Marchitez del tomate (Lycopersicon sculentum Mill). Tesis de grado. Ing. Agr. Ecuador. U de Guayaquil. p. 43 - 44.
4. Cheme, E. 2002. Determinación de alternativas para el manejo de enfermedades en el cultivo de pimiento (Capsicum annum) en la parroquia virgen de Fátima cantón Yaguachi. Tesis de grado. Ing. Agr. Ecuador, Universidad de Guayaquil. p 1.
5. INEC (Instituto Nacional Estadísticas y Censos, EC); MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería, EC); SICA (Proyecto SICA Banco Mundial, EC). 2002 III Censo Nacional Agropecuario. Resultados nacionales y provinciales. Ecuador, EC. p. 1254.
6. Jovel, J., Hilje L., Kleinn. C. Cartin V. y Valverde, B. 2000. Movimientos diarios de Bemisia tabaci en parcelas de tomate, en Turrialba, Costa Rica. En Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 55 p 49 - 55
7. Orozco-Santos M., Farias-Larios, J., López-Pérez J. y Ramírez N. 2000. Uso de Beauveria bassiana para el control de Bemisia argentifolii en melón. Manejo integrado de plagas (Costa Rica) 56 p 45 - 51
8. Regnault-Roger, C., Philogéne, B. J.R. y Vincent, C. 2004. Biopesticidas de origen vegetal. Mundi-Prensa. Madrid. p.21
9. Reyes, R; Barranco, B; García, G; Jiménez, G. 2002. Actividad in vivo de Trichoderma harzianum sobre Sclerotium rolfsii en plántulas de tomate. En manejo integrado de plagas. Agroecología. Costa Rica. No. 66.p.45-48



◀ **Ing. Agr. Diego Enrique Portalanza Peralta**

Tesista del Proyecto PIC-2006-1-013, INIAP
Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Guayaquil
E-mail: diegoportalanza@hotmail.com

Ing. Agr. María Leticia Vivas Vivas

Directora del proyecto: PIC-2006-1-013 "Alternativas biológicas para el manejo de insectos plaga y fitopatógenos de suelo en cultivos hortícolas en las provincias de Guayas y Manabí"
Profesora de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Guayaquil y Directora de Tesis.
malevivi@yahoo.com