



Ingeniería y Desarrollo

ISSN: 0122-3461

ISSN: 2145-9371

Fundación Universidad del Norte

SILVA ACOSTA, GABRIEL ERNESTO; PÁEZ REDONDO, ALBERTO RAFAEL

Antagonismo *in vitro* de nueve hongos aislados del Caribe colombiano sobre *Phytophthora* sp. asociado a palma aceitera

Ingeniería y Desarrollo, vol. 39, núm. 2, 2021, Julio-Diciembre, pp. 205-220

Fundación Universidad del Norte

DOI: <https://doi.org/10.14482/inde.39.2.579.546>

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85270747001>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

UDEM  redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc

Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH ARTICLE

<https://dx.doi.org/10.14482/inde.39.2.579.546>

Antagonismo *in vitro* de nueve hongos aislados del Caribe colombiano sobre *Phytophthora* sp. asociado a palma aceitera

*In Vitro Antagonism of Nine Isolated Fungi from the Colombian Caribbean against *Phytophthora* sp., Associated with Oil Palm*

GABRIEL ERNESTO SILVA ACOSTA *
ALBERTO RAFAEL PÁEZ REDONDO **

*Grupo de investigación Fitotecnia del Trópico, Universidad del Magdalena, Santa Marta (Colombia). Ingeniero agrónomo y administrador de empresas. Joven investigador e innovador de Colciencias, convocatoria 525 de 2011. Profesional de apoyo a la investigación en Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Agrosavia-CI Caribia (licencia de estudios, 2020 - 2022). gabrielsacosta@gmail.com.
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6519-8973>.

**Grupo de investigación Fitotecnia del Trópico, Universidad del Magdalena, Santa Marta (Colombia). Profesor de planta del programa de Ingeniería Agronómica. MSc. en Fitopatología. apaez@unimagdalena.edu.co. <https://orcid.org/0000-0001-9439-7448>.

Correspondencia: Alberto Rafael Páez Redondo. Universidad Del Magdalena, Carrera 32 No. 22 - 08 Sector San Pedro Alejandrino, Santa Marta, Colombia. Teléfono: (605) 4217940 y (605) 4381000. apaez@unimagdalena.edu.co

Origen de subvenciones: Artículo derivado del proyecto de investigación “Caracterización de hongos potencialmente biocontroladores en ecosistemas intervenidos y no intervenidos del Caribe seco colombiano”, financiado por el programa beca-pasantía de jóvenes investigadores e innovadores de Colciencias convocatoria “Virginia Gutiérrez de Pineda” N° 525 de 2011. Código del proyecto: convenio de cooperación N° 0079 del 12 de marzo de 2012.



Resumen

Phytophthora palmivora se asocia como causante de la pudrición del cogollo (PC), enfermedad que afecta el rendimiento y supervivencia de las plantaciones de palma aceitera en Colombia. Con el objetivo de explorar alternativas de control biológico a la PC se evaluó en *in vitro* la acción antagónica de nueve cepas de hongos filamentosos: *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium* sp. 01, *Penicillium* sp. 02, *Paecilomyces variotii* y *Trichoderma* sp. contra *Phytophthora* sp. aislado de palma aceitera, más un tratamiento control. Se estableció un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y se usó la técnica del plato dual en cajas Petri ($\varnothing = 90$ mm) con agar papa destrozada. Se midieron las variables crecimiento micelial radial (CMR), tasa de crecimiento micelial (TCM) y grado de inhibición (GI), a las 96 horas de incubación de los tratamientos. *Trichoderma* sp. y *A. niger* fueron estadísticamente superior a los demás tratamientos ($p \leq 0,01$), ejerciendo un 79 y 74 % de GI sobre el oomicete, respectivamente, restringiendo su CMR entre 2 a 2,3 cm y limitando su TCM hasta 4 veces menos respecto al control. Tres conglomerados jerárquicos fueron formados entre los nueve aislamientos por su comportamiento antagónico contra *Phytophthora* sp. Los aislados sobresalientes muestran potencial como biorreguladores del patógeno.

Palabras clave: Antagonista, biocontrol, *Elaeis guineensis* Jacq, fitopatología.

Abstract

Bud Rot Disease (BR), caused by *Phytophthora palmivora*, affects the yield and survival of oil palm crops in Colombia. With the objective of exploring biological control alternatives to the BR, we evaluated, under *in vitro* conditions, the antagonistic effect of nine filamentous strains fungi: *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium* sp. 01, *Penicillium* sp. 02, *Paecilomyces variotii* y *Trichoderma* sp. against *Phytophthora* sp., isolated from an oil palm crop, in addition to a control trial. A randomized complete block design with four repetitions was established using the dual culture technique in petri dishes ($\varnothing = 90$ mm) with potato dextrose agar. We measured variables such as radial mycelial growth (RMG), mycelial growth rate (MGR), and inhibition percentage (IP), at 96 hours after treatment incubation. The statistical test revealed that *Trichoderma* sp. and *A. niger* were the superior trials ($p \leq 0,01$), exerting 79 and 74 % of IP, respectively, against the oomycete. Furthermore, they restricted the RMG of the pathogen between 2 to 2,3 cm and limited its MGR up to 4 less times than the control trial. Three hierarchical conglomerates were formed according to the nine strains' antagonistic performance confronted with *Phytophthora* sp. The outstanding isolates have potential as bioregulators of the pathogen.

Keywords: Antagonist, biocontrol, *Elaeis guineensis* Jacq, phytopathology.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Phytophthora* es considerado como uno de los grupos de microorganismos causales de enfermedades en las plantas más devastadores [1]. En el caso de la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.), *Phytophthora palmivora* fue identificada como el principal agente causal asociado a la Pudrición del cogollo (PC), enfermedad reconocida como el problema fitosanitario más limitante en las plantaciones comerciales de palma aceitera a nivel del trópico [2], [3].

En Colombia, la palma aceitera representa el cultivo agroindustrial más extendido, con alrededor de 560 000 ha cultivadas y una producción de aceite de 2 millones de toneladas anuales, aproximadamente, aportando cerca del 10 % del valor del PIB agrícola nacional y generando 188 000 empleos, entre directos e indirectos, lo cual convierte al país en el mayor productor de aceite de palma en Sudamérica [4], [5]. Sin embargo, a pesar de la representatividad de este subsector agrícola en el país, su sostenibilidad se ha visto seriamente amenazada por la presencia de la PC en las plantaciones, la cual se estima que en los últimos cuatro años ha afectado alrededor del 22 % del total de superficie cultivada con palma aceitera [6], [7].

Desde la aparición de la PC en el territorio colombiano, reportada por primera vez en el año de 1964 en la región del Urabá antioqueño, a esta enfermedad se le atribuye en la actualidad del bajo rendimiento en fincas productoras en la zona central, norte y oriental del país. Por ejemplo, la PC fue el origen principal de erradicación de cerca de 35 000 hectáreas de cultivo en el departamento de Nariño y de afectar cerca de 2 000 ha en el departamento del Magdalena, en los últimos cinco años [8].

En términos etiológicos la PC se caracteriza por generar en sus etapas iniciales síntomas de pudrición en las hojas jóvenes (flechas) de las plantas de palma infectadas, cuya severidad se va incrementando cuando la pudrición alcanza el área meristemática del estípite, es decir, el punto donde ocurren procesos de multiplicación celular que inciden en el crecimiento de la planta. En esta etapa la infección es prácticamente irreversible, y desencadena gradualmente el necrosamiento de tejidos hasta ocasionar la muerte de las plantas enfermas [9].

Ante el limitado desarrollo de materiales comerciales de palma aceitera resistentes o altamente tolerantes a la PC, aptos para su cultivo en todo el territorio colombiano, el manejo de la enfermedad se ha centrado principalmente en la aplicación de las buenas prácticas agrícolas para prevenir su aparición dentro de nuevas plantaciones o de lentificar su diseminación en áreas productoras que ya han sido afectadas [10]. Prácticas como adecuado manejo de las plántulas en etapa de vivero, nutrición balanceada del cultivo, óptimos sistemas de riego y drenaje, monitoreo constante de insectos plaga, aplicación de fungicidas y erradicación de plantas enfermas, consti-

tuyen las principales actividades que se recomiendan para el manejo de la PC en la mayoría de los casos. No obstante, estas medidas se consideran insuficientes para manejar la enfermedad, especialmente cuando el nivel de contagio en una plantación alcanza el 5 % [11].

Ante este contexto, las estrategias de manejo de la PC en Colombia han enfocado su interés en la última década en probar opciones de control biológico de la enfermedad [12], sin que haya hasta la fecha resultados determinantes o productos en el mercado que se recomienden para el manejo biológico de la PC en condiciones de clima cálido tropical como, por ejemplo, en la región Caribe de Colombia, en la cual se cultiva cerca del 32 % del área total sembrada con palma aceitera en el país [13].

El control biológico, en cuanto al uso de microorganismos, se basa principalmente en identificar y probar especies de hongos, bacterias o virus que, de acuerdo con su naturaleza o rasgos evolutivos, puedan ejercer una acción antagónica sobre otros microorganismos susceptibles a estos, bajo las mismas condiciones medioambientales y entorno, para su desarrollo [14].

En búsqueda de alternativas que complementen las prácticas para el manejo de la PC, esta investigación tuvo como objetivo evaluar *in vitro* la acción antagónica de nueve cepas de hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* y *Trichoderma*, provenientes de agroecosistemas de la región Caribe de Colombia, frente a *Phytophthora* sp. aislado de una plantación comercial de palma aceitera afectada con PC, de la misma región

2. METODOLOGÍA

Microorganismos evaluados

El aislamiento de *Phytophthora* sp. provino de porciones de tejido de hojas jóvenes (cogollos) de plantas de palma aceitera con sintomatología de la enfermedad de pudrición del cogollo (PC), colectadas en una finca comercial de palma aceitera ubicada en el corregimiento de Guacamayal, municipio Zona Bananera, departamento del Magdalena (Colombia), ubicada en las coordenadas 10° 44'45.23'' N y 74°09'58,18'' O.

Las muestras se obtuvieron y se procesaron con base en protocolos ajustados de acuerdo con lo descrito por Martínez et al. [15], para la toma y manejo de muestras de tejidos en plantas de palma aceitera afectadas por la PC.

La confirmación taxonómica del aislamiento de *Phytophthora* sp. se realizó mediante montajes de porciones de crecimiento del patógeno en placas portaobjeto, en contraste con azul de metileno, observadas con un microscopio eléctrico Leica ICC50 (Leica Application Suite® LAS EZ, versión 1.7.0 Build:35), y siguiendo las claves ta-

xonómicas de Erwin y Ribeiro [16], definidas para la identificación de especies del género *Phytophthora*. El asilamiento identificado como *Phytophthora* sp. fue morfológicamente similar a la descripción de *Phytophthora palmivora* [16], no obstante, se reservó la identificación por nombre específico (sp.). Réplicas en tubos de ensayo y platos Petri con medio Agar Papa Dextrosa (PDA) y Corn Meal Agar (CMA), ligeramente acidificados al 2 % con ácido láctico, se obtuvieron para purificar, multiplicar y conservar la cepa fitopatógena [16].

Las nueve cepas de hongos filamentosos con potencial antagónico utilizados en el experimento correspondieron a *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium* sp. 01, *Penicillium* sp. 02 y *Trichoderma* sp., los cuales se obtuvieron de seis diferentes agroecosistemas en el departamento del Magdalena producto del proyecto de investigación Caracterización de hongos del suelo potencialmente biocontroladores, en ecosistemas intervenidos y no intervenidos del Caribe seco colombiano, desarrollado entre 2012 y 2013 en la Universidad del Magdalena (Santa Marta, Colombia) y cofinanciado por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia (Colciencias) hoy Minciencias.

Se consideró cada una de las nueve cepas enfrentadas en pruebas de antagonismo in vitro contra *Phytophthora* sp., como un tratamiento. Asimismo, se estableció un tratamiento control, el cual consistió en la siembra de *Phytophthora* sp. en el medio de cultivo utilizado (PDA), sin ningún antagonista (tabla 1). La investigación se llevó cabo en condiciones controladas en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad del Magdalena (coordenadas 11°13'18"N y 74°11'10"O).

TABLA 1. ESPECIES DE HONGOS EVALUADOS EN PRUEBAS ANTAGÓNICAS IN VITRO FRENTE A *PHYTOPHTHORA* SP.

Cepa	Nombre de hongo antagonista	Agroecosistema - sitio de origen	Tratamientos
1	<i>Aspergillus clavatus</i>	Maíz – Rizosfera	T1 (cepa 1 vs. <i>Phytophthora</i> sp.)
2	<i>Aspergillus glaucus</i>	Maíz – Rizosfera	T2 (cepa 2 vs. <i>Phytophthora</i> sp.)
3	<i>Aspergillus niger</i>	Forestales – Rizosfera	T3 (cepa 3 vs. <i>Phytophthora</i> sp.)
4	<i>Aspergillus nidulans</i>	Maíz – Suelo	T4 (cepa 4 vs. <i>Phytophthora</i> sp.)
5	<i>Aspergillus terreus</i>	Maracuyá – Rizosfera	T5 (cepa 5 vs. <i>Phytophthora</i> sp.)

Continúa...

Cepa	Nombre de hongo antagonista	Agroecosistema - sitio de origen	Tratamientos
6	<i>Paecilomyces variotii</i>	Maíz – Rizosfera	T6 (cepa 6 vs. <i>Phytophthora</i> sp.)
7	<i>Penicillium</i> sp. 01	Hortalizas-Rizosfera	T7 (cepa 7 vs. <i>Phytophthora</i> sp.)
8	<i>Penicillium</i> sp. 02	<i>Jatropha curcas</i> - Rizosfera	T8 (cepa 8 vs. <i>Phytophthora</i> sp.)
9	<i>Trichoderma</i> sp.	Relicto de Bosque – Suelo	T9 (cepa 9 vs. <i>Phytophthora</i> sp.)
Control	NA*	NA*	T10 (<i>Phytophthora</i> sp.)

*NA: no aplica, corresponde al tratamiento control de *Phytophthora* sp. en medio agar papa dextrosa acidificado al 2 % con ácido láctico, sin antagonista. vs: versus.

Pruebas de antagonismo in vitro

Se utilizó la técnica del plato dual para las pruebas de antagonismo in vitro [17]. Los tratamientos se organizaron bajo un diseño experimental de bloques completos al azar (DBCA) con cuatro repeticiones. Como unidad experimental se estableció un plato Petri ($\varnothing = 90\text{mm}$) de cada enfrentamiento en 20 ml de medio PDA acidificado al 2 % con ácido láctico.

En los montajes de cada tratamiento en los platos Petri se marcaron dos ejes paralelos distanciados a 4 cm entre sí y separados a 2,5 cm del borde de la caja. En el centro de un eje se colocó una porción de 2 mm de diámetro de medio de cultivo con crecimiento de *Phytophthora* sp. de 72 horas de incubación y en el centro del otro eje se colocó una porción de medio semejante con el microorganismo por evaluar, de la misma edad de incubación que el patógeno [17].

Los tratamientos fueron incubados en condiciones de oscuridad y a temperatura oscilante entre 27 y 29 °C y humedad relativa del 85 %, en una incubadora de la marca MMM serie INCUCELL®. Las evaluaciones se llevaron a cabo por un periodo de 96 horas, el cual fue el tiempo promedio en que *Phytophthora* sp. colonizaba el 90% \pm 5 % del medio de cultivo en las cajas de Petri donde creció como monocultivo.

Las variables dependientes evaluadas fueron: i) Crecimiento micelial radial (CMR) de los aislamientos evaluados frente al patógeno, cuantificado en cm a las 24, 48, 72 y 96 horas después de haber sembrado la cepa antagonista, versus el patógeno. ii) Tasa de crecimiento micelial (TCM) de los aislamientos ($\text{cm}\cdot\text{día}^{-1}$), determinada por la ecua-

ción 1 [18]. iii) Grado de inhibición (GI) del crecimiento del patógeno, en porcentaje, con lectura a las 96 horas, aplicando la fórmula de la ecuación 2 [19].

$$TCM = \frac{C_f - C_i}{T_f - T_i} \cdot \text{Ecuación (1)}$$

Donde C_f y C_i corresponde al crecimiento final y crecimiento inicial a las 96 y 24 horas, respectivamente, expresados en cm. T_f y T_i es el tiempo final y tiempo inicial de las mediciones, representados en días, respectivamente.

$$GI = \frac{(C_p - C_{p+a})}{C_p} * 100\% \cdot \text{Ecuación (2)}$$

Donde C_p es el crecimiento radial del patógeno (testigo), en centímetros, a las 96 horas, y C_{p+a} es el crecimiento radial del patógeno bajo la acción del antagonista a las 96 horas, expresado en centímetros.

Observaciones microscópicas de porciones de micelio de cada uno de los hongos filamentosos evaluados en su respectivo tratamiento fueron efectuadas después de 96 horas de incubación, para identificar posibles mecanismos de acción de microparasitismo frente a la cepa de *Phytophthora* sp.

Análisis estadísticos efectuados

Los datos obtenidos en el experimento fueron sometidos a pruebas de normalidad, mediante las cuales se comprobó la distribución normal de los datos. Se realizaron análisis de varianza para las tres variables evaluadas y pruebas de comparación de medias mediante Tukey ($p \leq 0,05$) en los casos en los que hubo significancia estadística. En estos análisis se utilizó el software estadístico SAS versión 9.0.

Se realizó la prueba de la distancia de Gower y el método de agrupamiento jerárquico de Ward [20], entre las nueve cepas de hongos filamentosos enfrentadas a *Phytophthora* sp., como forma de generar un sistema de jerarquización de conglomerados por similitudes cuantitativas respecto al desempeño antagónico global de cada uno de los aislamientos. Para ello se usó el paquete estadístico InfoStat-Statistical Software versión 2017.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza evidenció diferencias altamente significativas ($p \leq 0,01$) entre los 10 tratamientos evaluados para las tres variables analizadas, crecimiento micelial radial (CMR), tasa de crecimiento micelial (TCM) y grado de inhibición (GI), con coeficientes de variación menores que 10 % para cada variable (tabla 2).

TABLA 2. CUADRADOS MEDIOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS VARIABLES EVALUADAS EN LAS PRUEBAS DE ANTAGONISMO IN VITRO FRENTE A *PHYTOPHTHORA* SP.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios		
		CMR	TCM	GI
Tratamientos	9	27,349**	3203**	3497,45**
Bloques	3	0,019	0,004	0,851
Error	27	0,038	0,002	6,057
C.V (%)		6,37	4,38	9,08
Media		3,06	1,02	27,06
R ²		0,96	0,97	0,95

CMR: crecimiento micelial radial. TCM: Tasa de crecimiento micelial. GI: Grado de inhibición. **: Diferencias altamente significativas entre los tratamientos evaluados con $p \leq 0,01$. C.V: Coeficientes de variación. R²: Coeficiente de determinación ajustado.

La prueba de comparaciones de medias según Tukey (tabla 3) mostró que los hongos correspondientes a los tratamientos T3 (*Aspergillus niger*) y T9 (*Trichoderma* sp) fueron los que más afectaron el CMR del patógeno *Phytophthora* sp., sin diferencias estadísticas entre sí ($p \leq 0,05$), restringiendo el crecimiento de *Phytophthora* sp. en un 70,5 y 74,3 %, respectivamente, respecto al tratamiento control (T10). Entre tanto, los hongos correspondientes al T2 (*Aspergillus glaucus*), T5 (*Aspergillus terreus*), T7 (*Penicillium* sp. -01) y T8 (*Penicillium* sp. -02) no afectaron el CMR del patógeno, permitiendo que este se desarrollara de manera similar a como lo hizo en el tratamiento control (tabla 3). *A. niger* (T3) fue el microorganismo que más afectó la TCM de *Phytophthora* sp, registrando un valor medio de 0,28 cm·día⁻¹ y siendo estadísticamente superior a los demás ($p \leq 0,05$), mientras que las cepas *Penicillium* sp. - 01 (T7), *Aspergillus glaucus* (T2) y *Aspergillus terreus* (T5) mostraron una baja incidencia sobre la restricción de la TCM de *Phytophthora* sp. (tabla 3).

TABLA 3. COMPARACIONES DE MEDIAS PARA LAS VARIABLES CRECIMIENTO MICELIAL RADIAL (CMR) Y TASA DE CRECIMIENTO MICELIAL (TCM) DE *PHYTOPHTHORA* SP. EN PRUEBAS DE ANTAGONISMO IN VITRO FRENTE A NUEVE HONGOS AISLADOS DEL CARIBE COLOMBIANO

Tratamientos	Aislamiento	CMR (cm)	TCM (cm-día-1)
T1	<i>Aspergillus clavatus</i>	6,9 d*	1,877 d
T2	<i>Aspergillus glaucus</i>	8,4 ef	2,43 f
T3	<i>Aspergillus niger</i>	2,3 a	0,28 a
T4	<i>Aspergillus nidulans</i>	4,8 c	1,49 c
T5	<i>Aspergillus terreus</i>	8,5 f	2,45 f
T6	<i>Paecilomyces variotii</i>	4,0 b	0,71 b
T7	<i>Penicillium</i> sp. – 01	8,5 f	2,50 f
T8	<i>Penicillium</i> sp. – 02	8,0 e	2,28 e
T9	<i>Trichoderma</i> sp.	2,0 a	0,65 b
T10	Testigo (<i>Phytophthora</i> sp.)	8,8 f	2,9 g
DMSH		0,47	0,10

CMR: Crecimiento micelial radial. TCM: Tasa de crecimiento micelial. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. *: Valores con igual letra dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$.

Se plantea que el potencial antagónico que poseen algunas cepas de hongos hacia otros microorganismos, especialmente fitopatógenos, está dado por la capacidad que tiene el antagonista de colonizar y destruir parcial o totalmente las poblaciones del patógeno. Esta interacción se fundamenta en la biología de sobrevivencia y adaptación que posee la cepa antagónica en contraste con la susceptibilidad que presenta el patógeno [18], [21]. Lo anterior puede explicar lo evidenciado con *Aspergillus niger* (T3) y *Trichoderma* sp. (T9) frente la cepa de *Phytophthora* sp., donde mediante actividades antagónicas específicas lograron reducir significativamente el crecimiento del patógeno in vitro.

Los bajos valores de CMR y TCM presentados por *Phytophthora* sp. ante la acción de *Aspergillus niger* (T3) y *Trichoderma* sp. (T9), respecto a los demás hongos filamento-

sos, puede estar relacionado con una mayor actividad metabólica y reproductiva, así como una mejor adaptación ambiental de estas dos especies de microorganismos [22].

Respecto al grado de inhibición (GI) se ratificó la tendencia observada en las dos variables anteriores (CMR y TCM), siendo *Trichoderma* sp. (T9) y *Aspergillus niger* (T3) las cepas que ejercieron mejor capacidad antagónica al registrar una inhibición en el crecimiento de *Phytophthora* sp. del 74,36 y 70,52 %, respectivamente, comportándose estadísticamente iguales entre sí y diferente de los demás tratamientos ($p \leq 0,05$) (figura 1).

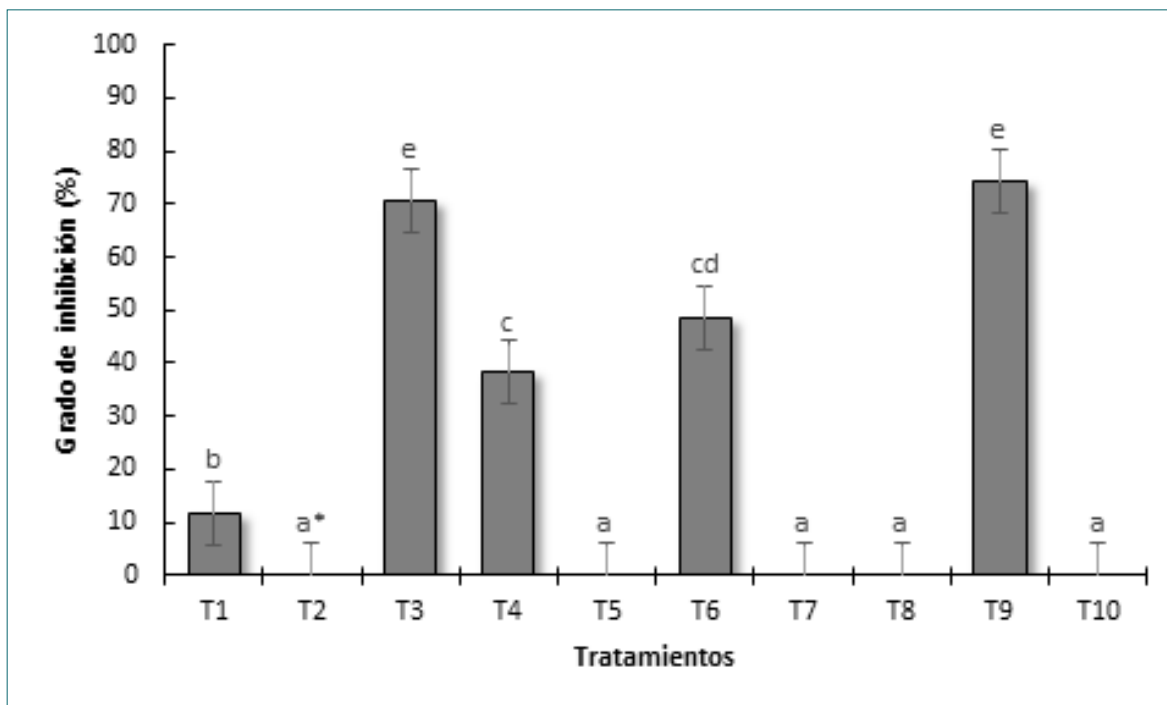


FIGURA 1. GRADO DE INHIBICIÓN DE *PHYTOPHTHORA* SP. INDUCIDO POR DIFERENTES TRATAMIENTOS DE HONGOS FILAMENTOSOS EN PRUEBAS DE ANTAGONISMO IN VITRO. VALORES CON IGUAL LETRA EN CADA BARRA SON IGUALES ESTADÍSTICAMENTE DE ACUERDO CON LA PRUEBA DE TUKEY CON $p \leq 0,05$.

Para el caso de los microorganismos con mayor GI, *Trichoderma* sp. (T9) y *Aspergillus niger* (T3), su comportamiento antagónico frente a *Phytophthora* sp., de acuerdo con las observaciones realizadas al microscopio en muestras de micelio de la región de interacción entre los dos microorganismos en cada tratamiento, se debió a micoparasitismo y competición directa por espacio y nutrientes, respectivamente, lo cual ha sido descrito en varias investigaciones de antagonismo in vitro [18], [21], [23]. En

las observaciones microscópicas, las hifas de *Trichoderma* sp. (T9), caracterizadas por ser hialinas y con septos [12], colonizaron el soma y estructuras reproductivas del oomycete, reprimiendo, de esta manera, su crecimiento, mientras que, en el caso de *Aspergillus niger* (T3) se evidenció la formación de un soma denso, con un rápido crecimiento micelial y la generación de halos de inhibición sobre el medio de cultivo que restringieron el crecimiento de *Phytophthora* sp. en los platos Petri.

Los resultados encontrados en esta investigación con respecto a la actividad de la cepa de *Trichoderma* sp. frente a *Phytophthora* sp. (T9) muestran concordancia con los hallazgos de [24], quienes reportaron grados de inhibición similares, entre el 50 y 70 %, al enfrentar ocho aislados de *Trichoderma* frente a un aislado de *Phytophthora*, atribuyendo el antagonismo in vitro, principalmente, a la acción micoparasítica del antagonista. Asimismo, se ha reportado que las especies del género *Trichoderma* se caracterizan por tener una rápida velocidad de crecimiento micelial que puede afectar negativamente el crecimiento de cepas fitopatógenas cuando se exponen en cultivos duales [25].

Respecto a *Aspergillus niger* (T3), los resultados muestran concordancia con los aportes de [21], quienes al evaluar mediante enfrentamientos in vitro la acción de seis cepas del género *Aspergillus* (*A. niger*, *A. nidulans*, *A. ocraceus*, *A. wentii*-11 y *A. wentii*-22) frente a dos cepas de hongos fitopatógenos, encontraron que la inhibición antagónica ejercida por *A. niger* se debió a la competencia por nutrientes y espacio, tal como se observó en esta investigación.

Las investigaciones sobre *Aspergillus niger* como antagonista o biocontrolador de microbios patógenos han sido escasas [26], [27], [28], y un mayor número de estudios se han enfocado en evaluar el riesgo que puedan representar especies como estas, y en general del género *Aspergillus*, sobre la inocuidad de alimentos y la salud humana. En especial se resalta la capacidad de algunas especies de *Aspergillus* para producir aflatoxinas, un grupo de sustancias químicas que resultan tóxicas para varios grupos de seres vivos, entre ellos los mamíferos [29], [30]. Por lo anterior, la aplicabilidad de cepas de *Aspergillus* como agentes antagónicos sobre microorganismos perjudiciales en la actividad agrícola estará sujeta al desarrollo de investigaciones que demuestren, además de su eficiencia biológica como biocontrolador, su seguridad para el proceso productivo.

La prueba de la distancia de Gower y el método de agrupamiento jerárquico de Ward, aplicado a la interacción de las tres variables analizadas (CMR, TCM y GI), como medida del desempeño antagónico global, permitió la formación de tres conglomerados entre las nueve cepas evaluadas: C-I (*Penicillium* sp. – O1, *Penicillium* sp. – O2, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus terreus* y *Aspergillus clavatus*), C-II (*Aspergillus nidulans* y *Paezilomyces variotii*) y C-III (*Trichoderma* sp. y *Aspergillus niger*), con un coeficiente de

correlación cofenética de 0,96 (figura 2). Esto indica la existencia de similitudes y diferencias entre algunos aislamientos por su capacidad controladora frente a *Phytophthora* sp.

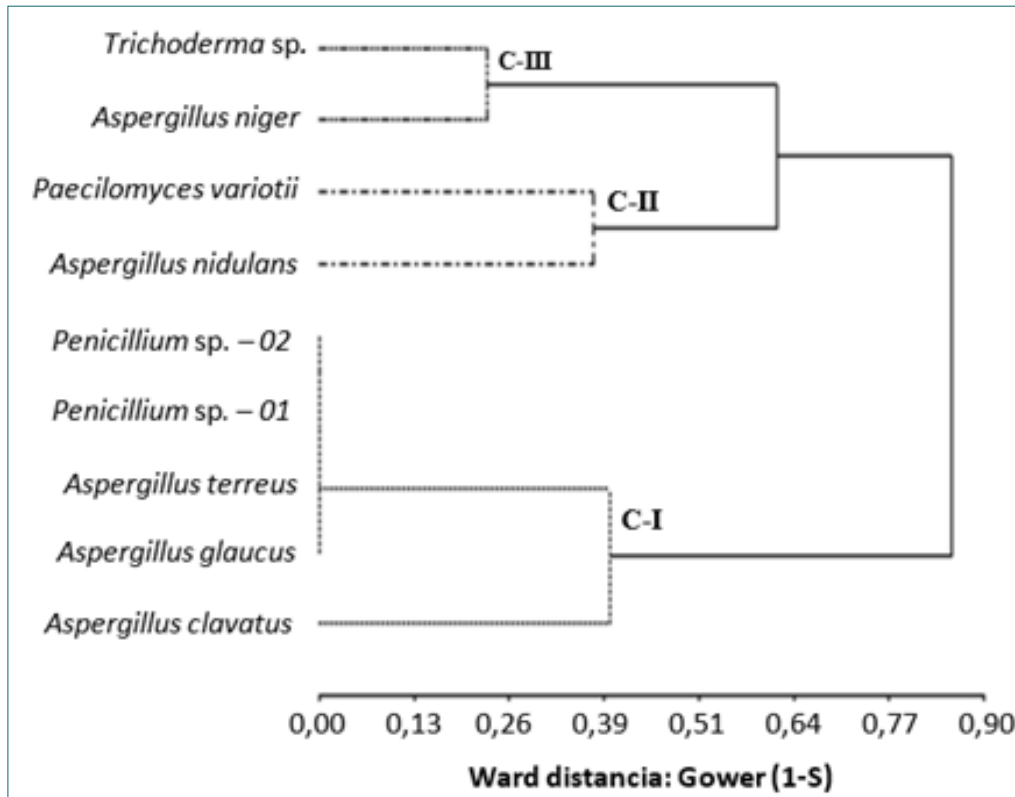


FIGURA 2. CONGLOMERADOS FORMADOS EN LAS CEPAS EVALUADAS DE ACUERDO CON LA DISTANCIA DE GOWER Y AGRUPAMIENTO JERÁRQUICO DE WARD (CORRELACIÓN COFENÉTICA = 0,96)

El C-I representa a los morfotipos con un bajo a nulo GI sobre *Phytophthora* sp., es decir, inferior al 38 %, con TCM inferiores a 1 cm·día⁻¹ y que permitieron el mayor CMR de *Phytophthora* sp., siendo igual al testigo (T10) en algunos casos. El C-II está formado por cepas con un nivel medio de GI sobre *Phytophthora* sp., o sea, mayor que 38 % pero menor que 70 %, con TCM entre 1 y 2 cm·día⁻¹ y reduciendo entre un 40 a 50 % el CMR de *Phytophthora* sp. respecto al control. El C-III representa a los morfotipos que mostraron un alto GI sobre *Phytophthora* sp., es decir, superior al 70 %, con TCM mayores que 2 cm·día⁻¹ y restringiendo el CMR de *Phytophthora* sp. hasta en 90 % con respecto al testigo (T10).

Estos resultados permiten enfocar esfuerzos y direccionar futuras investigaciones en evaluar la capacidad antagónica de las cepas agrupadas en los conglomerados más sobresalientes, C-I y C-II, sobre su efecto en otros microorganismos fitopatógenos, en condiciones *in vitro*, estudiando diferentes tipos de medios de cultivo, y a nivel de campo en condiciones semicontroladas.

4. CONCLUSIONES

Las cepas de *Trichoderma* sp. y *Aspergillus niger* ofrecen potencial como antagonista de *Phytophthora* sp., mostrando actividad antagónica micoparasítica y de competencia sobre el oomicete.

Trichoderma sp. y *Aspergillus niger* se perfilan como agentes promisorios para el control de la pudrición del cogollo en cultivos de palma aceitera de la región norte de Colombia.

Es necesario estudiar la naturaleza de las interacciones microbiales y los diferentes factores que permitan niveles más satisfactorios de colonización de los antagonistas frente a *Phytophthora* sp.

Agradecimientos

Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (Colciencias), actualmente Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación (Minciencias), por el financiamiento. Al laboratorio de Fitopatología de la Universidad del Magdalena por el apoyo técnico e insumos suministrados.

REFERENCIAS

- [1] S. Guha Roy, “Phytophthora: A Member of the Sixth Kingdom Revisited as a Threat to Food Security in the Twenty-First Century”, *Value Addition of Horticultural Crops: Recent Trends and Future Directions*, Springer, India, vol. 1, no. 1, pp. 325-337, febr. 2015. doi: 10.1007/978-81-322-2262-0_19.
- [2] Sarria, G. Torres, H. Aya, J. Ariza, J. Rodríguez, D. Vélez, F. Varón y G. Martínez, “Phytophthora sp. es el responsable de las lesiones iniciales de Pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite en Colombia”, *Palmas*, vol. 29, edición especial, pp. 31-41, sept. 2008.
- [3] G. Torres, G.A. Sarria, G.A., G. Martínez, F. Varón, A. Drenth y D.I. Guest, “Bud rot caused by *Phytophthora palmivora*: A destructive emerging disease of oil palm”, *Phytopathology*, vol. 106, n.º 4, pp. 320-329, mar. 2016. Doi:10.1094/PHYTO-09-15-0243-RVW.

- [4] L. Potter, "Colombia's oil palm development in times of war and 'peace': Myths, enablers and the disparate realities of land control", *Journal of Rural Studies*, vol. 78, pp. 491-502, febr. 2020. Doi: 10.1016/j.jrurstud.2019.10.035.
- [5] Fedepalma, "Fedepalma, 55 años de gestión gremial para desarrollar y consolidar la agroindustria de la palma de aceite en Colombia", *El Palmicultor*, vol. 552, pp. 5-7. 2018.
- [6] J. Gil, M. Herrera, J. Duitama, G. Sarria, S. Restrepo y H.M Romero, "Genomic variability of *Phytophthora palmivora* isolates from different oil palm cultivation regions in Colombia", *Phytopathology*, vol. 110, n.º 9, pp. 1553-1564, jul. 2020. Doi: 10.1094/PHYTO-06-19-0209-R.
- [7] K. Ávila Méndez, A. Rodrigo, L. Araque y H.M Romero, "Simultaneous transcriptome analysis of oil palm clones and *Phytophthora palmivora* reveals oil palm defense strategies", *PloSone*, vol. 14, n.º 9, pp. 1-14, sept. 2019. Doi: 10.1371/journal.pone.0222774.
- [8] R. R. Paterson, "Future scenarios for oil palm mortality and infection by *Phytophthora palmivora* in Colombia, Ecuador and Brazil, extrapolated to Malaysia and Indonesia", *Phytoparasitica*, Springer, vol. 48, pp. 513-523, may. 2020. doi: 10.1007/s12600-020-00815-6.
- [9] M. Maizatul Suriza, M. Dickinson y A. Seman Idris, "Molecular characterization of *Phytophthora palmivora* responsible for bud rot disease of oil palm in Colombia", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 35, n.º 3, pp. 35-44, febr. 2019. Doi: 10.1007/s11274-019-2618-9.
- [10] N. Arias, J. Beltrán, J. Guerrero, & A. Sánchez, "Tecnologías para el manejo de la Pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite validadas en las zonas palmeras de Colombia", *Palmas*, vol. 35, n.º 2, pp. 39-52, jun. 2014.
- [11] G. Martínez, J. Sanz, G. Torres, G. Sarria, D. Velez et al., "The integrated management of bud rot disease and *Phytophthora palmivora* in oil palm", *Achieving Sustainable Cultivation of oil palm*, vol. 2: Diseases, Pests, Quality, and Sustainability. Ed. Burleigh Dodds: science publishing, England, 2018, pp. 115-136. Doi:10.19103/AS.2017.0018.30.
- [12] M.A. García Pinilla, "Evaluación de aislamiento de *Trichoderma* spp. para el control de *Phytophthora palmivora* agente causante de la Pudrición del cogollo de la palma de aceite", disertación trabajo de pregrado, Corporación Universitaria Minuto de Dios, 2017. Disponible en: repository.uniminuto.edu/bitstream/handle/10656/4882/T.AIG_GarciaPinillaAlejandraMilena_2017.pdf?sequence=1.
- [13] Fedepalma, (12 dic. 2020) "La palma de aceite en Colombia", Portalweb.fedepalma.org/la-palma-de-aceite-en-colombia-departamentos, 12 dic. 2020. Registro actualizado con datos del Servicio de Información de precios del sector agropecuario (SIPSA) del Departamento Administrativo Nacional de Estadística de Colombia (DANE). [En línea]. Disponible en: www.dane.gov.co/index.php/servicios-al-ciudadano/servicios-informacion/sipsa.

- [14] B.I.P. Barratt, V.C. Moran, F. Bigler y J. C. Van Lenteren, “The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future”, *BioControl*, Springer, vol. 63, pp. 155-167, jul. 2017. Doi: 10.1007/s10526-017-9831-y.
- [15] G. Martínez, G. Sarria, G. Torres y F. Varón, “Avances en la investigación de *Phytophthora palmivora*, el agente causal de la Pudrición del cogollo de la palma de aceite en Colombia”, *Palmas*, vol. 31, n.º 1, pp. 55-63. 2010.
- [16] D.C. Erwin y O.K. Ribeiro, “*Phytophthora* diseases worldwide”. The American Phytopathological Society. USA: APS-Press Minnesota, 1996.
- [17] I. Răut, F. Oancea, A.B.L.S. Trinidad, M. Călin, D. Constantinescu-Aruxandei, M. Badea-Doni, M. Arsene, G. Valisescu, T. Şesan y L. Jecu, “Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against *Phytophthora parasitica*”, *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, vol. 21, pp. 179-182, sept. 2017.
- [18] C. Guigón, V. Guerrero, F. Vargas, E. Carvajal, G.D. Ávila, L. Bravo, M. Ruocco, S. Lanzuise, S. Woo y M. Lorito, “Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento in vitro y antagonismo contra hongos fitopatógenos”, *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 28, n.º 2, pp. 87-96, ene. 2010.
- [19] J.G. Aquino-Martínez, L.M. Vázquez-García y B.G. Reyes-Reyes, “Biocontrol in vitro e in vivo de *Fusarium oxysporum* Schlecht.f. sp. *Dianthi* (Prill y Delacr.) Snyder y Hans con hongos antagonistas nativos de la zona florícola de Villa Guerrero”, *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 26, n.º 2, pp. 127-137, ene. 2008.
- [20] J.A. Di Rienzo, F. Casanoves, M. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C. Robledo. “InfoStat statistics software student version”, *Grupo InfoStat*, FCA, Universidad Nacional de Cordoba, Argentina. [En línea]. Disponible en: URL: <http://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=30>. 2017.
- [21] V.F. Quiroz-Sarmiento, R. Ferrera-Cerrato, A. Alarcón y M.E. Lara Hernández, “Antagonismo in vitro de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma*, hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo”, *Revista mexicana de micología*, vol. 26, pp. 27-34, jun. 2008.
- [22] C.M. Cepero de García, S. Restrepo, A.E. Franco, M. Cardenas y N. Vargas, *Biología de hongos*. Bogotá, D.C. Col.: Ediciones Uniandes, 2012, p. 520.
- [23] M. Ezziyyani, C. Pérez, A. Ahmed, M. Requena y M. Candela, M. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L), *Anales de Biología*, vol. 26, n.º 26, pp. 35-45, may. 2004.
- [24] S. Carreño, J. Blanco y B. Villegas, “Selección de hongos biocontroladores de *Phytophthora cactorum*, agente causal de la Pudrición radical y de corona en manzano”, *Agronomía*, vol. 14, n.º 1, pp. 89-96, 2006.

- [25] A. Almaraz, D. Alvarado y L. Saavedra, “Trampeo de *Phytophthora cinnamomi* en bosque de encino con dos especies ornamentales e inducción de su esporulación”, *Revista Chapingo*, vol. 19, n.º 1, pp. 5-12, ene. 2012.
- [26] K.A. Powell, A. Renwick y J.F. Peberdy, “The genus *Aspergillus*: from taxonomy and genetics to industrial application”, *Springer Science & Business Media*, vol. 69, pp. 359, 2013.
- [27] E. Schuster, N. Dunn-Coleman, J.C. Frisvad y P.W. Van Dijck, “On the safety of *Aspergillus niger*—a review”, *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 59, n.º 4, pp. 426-435, agos. 2002. Doi: 10.1007/s00253-002-1032-6.
- [28] S.A. El-Debaiky, “Antagonistic studies and hyphal interactions of the new antagonist *Aspergillus piperis* against some phytopathogenic fungi in vitro in comparison with *Trichoderma harzianum*”, *Microbial pathogenesis*, vol. 113, pp. 135-143, dic. 2017. Doi: 10.1016/j.micpath.2017.10.041.
- [29] R.F. Lazo y G. Sierra, “Investigación del efecto de las micotoxinas en el ser humano”. *Revista Iberoamericana de Micología*, vol. 25, n.º 1, pp. 7-11, 2008.
- [30] L.A. Tell, “Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine”, *Medical Mycology*, vol. 43 (Supplement 1), S71-S73, 2005. Doi: 10.1080/13693780400020089