ISSN - 0120 - 0178

AVANCES TÉCNICOS 336

Cenicafé

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia

Gerencia Técnica / Programa de Investigación Científica / Junio de 2005

# BIORREGULACIÓN DE *Rhizoctonia solani* EN GERMINADORES DE CAFÉ

Ángela María Castro-Toro*; Carlos Alberto Rivillas-Osorio**.

El volcamiento, mal del talluelo o *damping-off* de las chapolas de café, es una enfermedad causada por *Rhizoctonia solani* cuyo estado sexual corresponde al hongo basidiomyceto *Thanatephorus cucumeris*. *R. solani* se caracteriza por presentar hifas jóvenes ramificadas en ángulos rectos cercanos al septo distal, que tienen una relación grosor-longitud 5:1 (4) (Figura 1). Esta enfermedad ocurre en focos en el germinador y si el ataque es temprano, la plántula no emerge debido al daño causado al embrión por el hongo. Cuando el ataque ocurre en el estado de fósforo o chapola, el tallo presenta inicialmente una pequeña mancha oscura, húmeda y hundida, que va progresando hasta rodearlo completamente, produciéndose el volcamiento y la muerte de la plántula. Ésta es la principal enfermedad del cultivo del café en la etapa de germinador, que reduce en forma parcial o total la población de plántulas (5).

Un manejo recomendado para la enfermedad consiste en tratar la arena lavada de río empleada como sustrato en germinadores con un fungicida como tiabendazol (Mertect), antes de sembrar las semillas de café. La dosis del fungicida es de 10 ml en 2 litros de agua/$m^2$ de germinador (2).

Desde épocas remotas se han utilizado diferentes sistemas de producción de cultivos que han generado altos costos sociales y ambientales, lo cual ha llevado a considerar el concepto de agricultura sostenible, donde el uso de los recursos naturales constituye la base de la producción agrícola (3). De esta forma, la alternativa para el manejo del volcamiento, se basa en el desarrollo de métodos biológicos, donde hongos de los géneros *Trichoderma* y *Gliocladium*, y algunas bacterias del suelo parasitan al hongo *R. solani*. La adición de estos microorganismos a las semillas y suelos infestados por *Rhizoctonia* disminuye de manera considerable la incidencia y la severidad de este hongo patógeno (1).

* Bacterióloga, M.Sc en Fitopatología. Organización de Industrias Unidas S.A. Orius Biotecnología. Villavicencio, Meta, Colombia.

**Asistente de Investigación. Fitopatología. Centro Nacional de Investigaciones de Café. Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

https://doi.org/10.38141/10779/0336

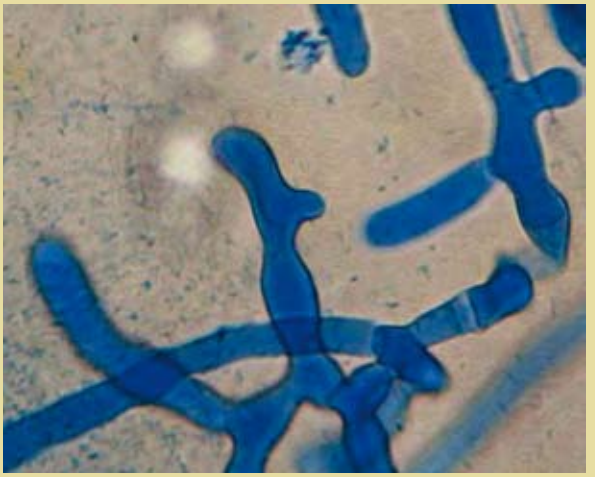

**Figura 1.** Micelio de *Rhizoctonia solani*. Obsérvense las hifas formando ángulos rectos.

El caficultor debe tener presente la importancia de la sanidad de la chapola de café desde la etapa de germinador con el fin de producir una plántula vigorosa y de buena adaptación a las condiciones de almácigo y posteriormente de campo. Si lo anterior se complementa con la adición de organismos como *Trichoderma*, es posible que las plantas puedan enfrentar ataques de otros hongos patógenos como *Rosellinia* spp. y *Ceratocystis* sp. y de algunos nematodos noduladores (6).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Con el fin de evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum* (ingrediente activo del producto comercial Tricho-D) sobre *Rhizoctonia solani*, en semilleros de café, se realizó un experimento en Cenicafé - Planalto (Chinchiná). Como germinadores se utilizaron bandejas plásticas de 858 $cm^2$, y como sustrato arena sin esterilizar. Por bandeja se sembraron 260 semillas de café supremo variedad Castillo, sumistrada por la Disciplina de Mejoramiento Genético de Cenicafé (92% de germinación).

Para el desarrollo del experimento se aisló, incrementó e inoculó el hongo patógeno *Rhizoctonia solani*. Para tal fin, se desarrollaron las siguientes labores:

- **Aislamiento e incremento de *R. solani*.** El patógeno se aisló de chapolas de café con síntomas y signos de la enfermedad siguiendo la metodología descrita por Leguizamón (10). Para ello se seleccionaron trozos del tallo de las plantas con parte enferma y parte sana, se lavaron con agua corriente y se desinfestaron en hipoclorito de sodio al 1% durante un minuto. Posteriormente se lavaron con agua destilada estéril y se sembraron en el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA). Las muestras se incubaron a 27°C, alternando 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz, durante las primeras 24 horas. Para el incremento del hongo se hicieron repiques de éste en recipientes de vidrio que contenían 100 g de zanahoria picada + 20 ml de agua destilada (esterilizados). Estos recipientes se incubaron a 27°C durante 8 días, tiempo en el cual, el hongo cubrió completamente el sustrato.

- **Inoculación de *R. solani*.** Para aplicar el inóculo en la arena se tomaron 100 g de zanahoria con crecimiento del hongo y se licuaron durante 30 segundos, en 500 ml de agua destilada estéril. La suspensión licuada se asperjó sobre la superficie de la arena empleando un volumen de 87 ml/bandeja.

- **Aplicación del fungicida y del producto biológico.** La aplicación de ambos productos se realizó al momento de sembrar las semillas asperjándolos en la superficie de la arena. El fungicida tiabendazol (Mertect) se aplicó en una concentración de 10 ml del producto comercial/L de agua y en un volumen de 172 ml/bandeja. Del producto biológico Tricho-D se aplicaron por bandeja 87 ml en una concentración de 10 g del producto comercial/L de agua. Estos valores equivalen a dos y a un litro por $m^2$ de germinador, respectivamente.

Finalmente, el germinador se humedeció con agua de la llave, una vez por semana, debido a que no estaba en campo abierto. Las bandejas con los diferentes tratamientos se taparon con costales de fique que se retiraron en el momento en que las semillas comenzaron a emerger.

En la Tabla 1, se describen los tratamientos utilizados en este experimento.

Se realizaron dos evaluaciones, a los 45 y 75 días después de sembradas las semillas, y en cada una se evaluaron 130 semillas, registrándose el porcentaje de germinación y la incidencia de *R. solani* en las plántulas de café. Se midió el antagonismo de *Trichoderma harzianum* sobre el desarrollo de la enfermedad producida por el hongo patógeno en forma natural e inoculado, y como testigo de referencia se empleó el tratamiento con el fungicida tiabendazol (Mertect).

El estudio se realizó bajo un diseño experimental completamente aleatorio con cinco repeticiones por tratamiento y se empleó la prueba de comparación de promedios de Tukey al 5%.

**Tabla 1.** Descripción de tratamientos para la evaluación de la incidencia de *Rhizoctonia solani*, sobre plántulas de café.

| TRATAMIENTOS |
|---|
| Arena sin esterilizar + semilla (Testigo absoluto) |
| Arena sin esterilizar + tiabendazol + semilla (Testigo de referencia) |
| Arena sin esterilizar + *Rhizoctonia solani* + semilla (6 DDI *Rs*) |
| Arena sin esterilizar + *Trichoderma harzianum* + semilla (6 DDI *Th*) |
| Arena sin esterilizar + *T. harzianum* + *R. solani* (6 DDI*Th*) + semilla (6 DDI *Rs*) |

DDI*Rs*: Días después de la inoculación de *R. solani*
DDI*Th*: Días después de la inoculación de *T. harzianum*

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En relación con la germinación, en la Figura 2 se aprecia que las semillas correspondientes al tratamiento donde se aplicó el fungicida tuvieron 62% de germinación. Con la aplicación de *Trichoderma harzianum* se obtuvo una germinación del 44%, resultado similar al testigo absoluto, en el cual se registró un 43% de germinación de las semillas. Entre estos tres valores no hubo diferencias estadísticas.

Estos resultados muestran que a los 45 días de sembradas las semillas, el hongo antagonista no promovió ni limitó la germinación de éstas. Leguizamón (10) obtuvo resultados similares de germinación

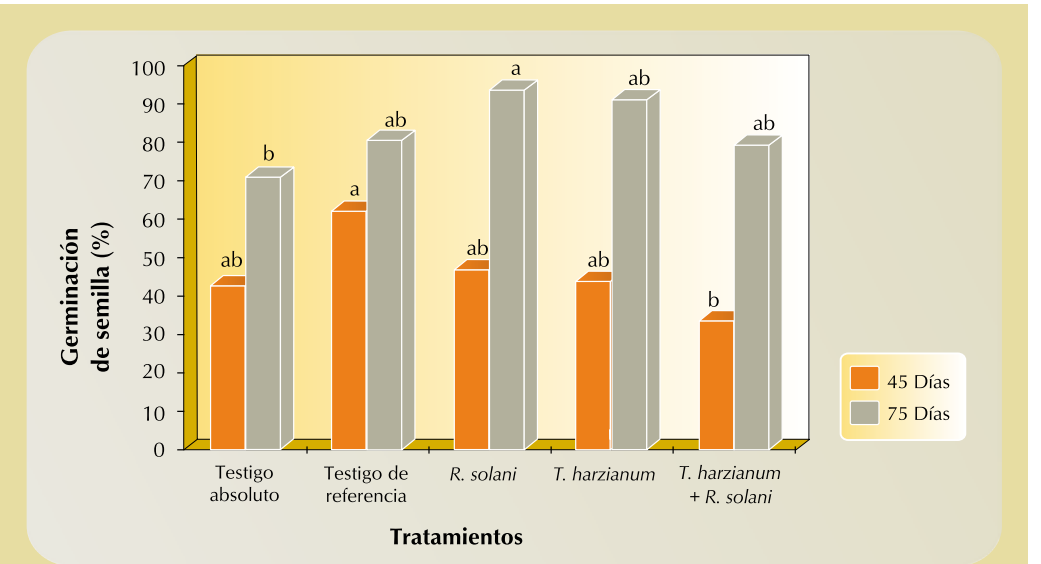


**Figura 2.** Germinación de semillas de café, 45 y 75 días después de sembradas y aplicados los tratamientos.

de semillas de café con aplicaciones de tiabendazol y *Trichoderma*, registrando valores de germinación de 61 y 48%, respectivamente.

Después de 75 días de sembradas las semillas, la germinación promedio fue de 83% en todos los tratamientos (Figura 2). En esta evaluación solo se presentaron diferencias estadísticas significativas entre el testigo absoluto y el inoculado con el patógeno *R. solani*. Con la aplicación del fungicida se obtuvo el 80% de germinación, mientras que con la aplicación del producto biológico este valor fue de 91%, dejando entrever un efecto promotor en la germinación de éstas por parte del hongo antagonista.

Algunos autores han demostrado el efecto inductor en el crecimiento y desarrollo de las plantas por parte de *Trichoderma* spp., es así como Yossen *et al.* (16), demostraron que al incorporar *T. harzianum* (TL 98) en germinadores de lechuga, además de reducir el daño causado por *R. solani*, el antagonista promovió el crecimiento de las plantas. Igualmente Inbar *et al.* (8) observaron que aplicando *T. harzianum* en semilleros de pepino y de pimentón se incrementó significativamente el crecimiento de las plántulas, comparadas con aquellas que no recibieron la adición del hongo antagonista. Estos trabajos muestran el beneficio de aplicar hongos, como *Trichoderma*, desde la etapa de germinador para obtener plantas vigorosas y sanas.

En la Tabla 2, se observa que 45 días después de sembradas las semillas, éstas no presentaron síntomas de la enfermedad en ninguno de los tratamientos evaluados (Figura 3). Estos resultados contrastan con lo encontrado por Leguizamón (10), quién para ese mismo período en germinadores de café, encontró que el testigo inoculado con *R. solani* presentó 93% de infección y el testigo absoluto el 20%. En ese trabajo, la eficacia del control con el fungicida tiabendazol fue de 59% y con *Trichoderma* spp. (cepa T-1644) fue de 45%. Estos resultados demuestran que la infección temprana o tardía, producida por *R. solani*, en semillas germinadas de café, depende en gran parte de la agresividad del inóculo primario presente allí.

Con respecto a la incidencia de *R. solani*, a los 75 días se observaron los síntomas de la enfermedad principalmente en el testigo absoluto (Figura 4) y en el testigo inoculado con *R. solani* (Figura 5). En la Tabla 2, se aprecia que el testigo absoluto presentó un 18% de incidencia de la enfermedad, comparado con los dos tratamientos donde se aplicó *T. harzianum* y el fungicida con porcentajes de infección de 1,0 y 1,3, respectivamente (Figura 5), por tanto, se evidencia la presencia del hongo patógeno en la arena que no recibió tratamiento como también, el efecto positivo de la aplicación del fungicida y del producto biológico sobre *R. solani*, en los cuales ocurrió una disminución del 95% de la incidencia de la enfermedad, en relación con el testigo absoluto.

Cuando se inoculó el hongo patógeno al sustrato el nivel de infección de las plántulas fue de 51% (Tabla 2 y Figura 7), comparado con el tratamiento donde se aplicó primero el hongo antagonista y posteriormente, el hongo patógeno, el cual tuvo una infección de 22%. Es claro que a pesar de la inoculación del hongo patógeno el antagonista disminuyó la enfermedad en 57%.

**Tabla 2.** Niveles de infección por *Rhizoctonia solani*, 45 y 75 días después de sembradas las semillas.

| TRATAMIENTO | INCIDENCIA (%) | |
|---|---|---|
| | 45* | 75* |
| Arena + semilla | 0 | 18 ab** |
| Arena + tiabendazol + semilla | 0 | 1,3 b |
| Arena + *R. solani* + semilla (6 DDI*Rs*) | 0 | 51 a |
| Arena + *T. harzianum* + semilla (6 DDI*Th*) | 0 | 1,0 b |
| Arena + *T. harzianum* + *R. solani* (6 DDI *Th*) + semilla (6 DDI*Rs*) | 0 | 22 ab |

**Promedios con letras distintas indican diferencias estadísticas (Tukey al 5%)
*DDS: Días después de sembrada la semilla
DDI *Rs*: Días después de la inoculación de *R. solani*
DDI *Th*: Días después de la inoculación de *T. harzianum*

**Figura 3.** Semillas germinadas de café, 45 días después de la siembra, sin la presencia del hongo *R. solani*. **a**: Testigo absoluto. **b**: Testigo de referencia (Mertect). **c**: *R. solani*. **d**: *T. harzianum*. **e**: *T. harzianum* + *R. solani*.

**Figura 4.** Diferentes lesiones de *R. solani* en plántulas de café en estado de fósforo (raíz, cuello de la planta e hipocotilo), 75 días después de la siembra (testigo absoluto).

**Figura 5.** Daño producido por *R. solani* en fósforos de café, 75 días después de la siembra (testigo inoculado con *R. solani*).

**Figura 6.** Fósforos de café sanos, 75 días después de la siembra, tratados con tiabendazol (a) y con *T. harzianum* (b).

**Figura 7.** Fósforos de café afectados por mal del talluelo, 75 días después de la siembra (testigo inoculado con *R. solani*).

Rincón *et al.* (12), demostraron el efecto antagónico de *Trichoderma* sobre *R. solani* en semilleros de café, obteniendo una reducción de 55% en la incidencia de la enfermedad cuando inocularon el sustrato con el hongo antagonista (cepa T 1644).

Estos resultados demuestran que el hongo *T. harzianum* tiene un alto potencial antagónico contra *R. solani* en germinadores de café. Así mismo, el efecto biorregulador de *Trichoderma* hacia los patógenos del suelo ha sido ampliamente comprobado en diferentes cultivos (8, 9, 11). Se aprecia de manera clara en estos trabajos, que la aplicación de microorganismos benéficos desde la etapa de semillero le proporciona a las plántulas vigor y favorece la biorregulación de patógenos desde las primeras etapas del cultivo. La habilidad de *Trichoderma* se basa en sus propiedades antagónicas, las cuales involucran parasitismo y lisis del hongo patógeno, y la competencia por factores limitantes en la rizosfera, principalmente hierro y carbón. También se sugieren otros posibles mecanismos donde se ha encontrado a *Trichoderma* penetrando y estableciéndose en la corteza radical de las plantas, incrementando las actividades de la enzima hidrolítica β–1-3 gluconasa y quitinasa, probablemente estimulando los mecanismos de defensa de las plantas (8, 9, 11). Scarselletti *et al.* (15) y Yossen *et al.* (16), demostraron la presencia de diferentes compuestos y antibióticos producidos por el hongo *T. harzianum*, los cuales causan destrucción total de las hifas de los hongos patógenos (Figura 8).

**Figura 8.** Micoparasitismo producido por *Trichoderma* sobre micelio de *Rhizoctonia solani*. Fotografía: Rincón (13).

Finalmente, en términos económicos, el costo por metro cuadrado de germinador es de aproximadamente $1.500 a precios de 2005 para los dos productos evaluados. En el caso del fungicida se estaría empleando una tecnología que afecta el ambiente, por ser un producto químico de síntesis, riesgoso para la salud de los humanos, y que requiere una mayor cobertura sobre el sustrato para lograr la total protección de los fósforos o las chapolas de café contra *R. solani*. Con el uso del producto biológico, el hongo se multiplica y redistribuye sobre la arena, tiene una mayor persistencia, protege la plántula en etapas posteriores de cultivo contra otros patógenos radicales y le transfiere a la planta, dada su característica de endófito, mayor crecimiento y desarrollo (7), lo cual está de acuerdo con la tendencia a producir soluciones ambientalmente sostenibles.

## CONCLUSIONES

- En la arena sin esterilizar que se emplea para construir germinadores de café, está presente el hongo *Rhizoctonia solani* y su potencial de infección varía según la agresividad del inóculo primario presente en ese sustrato.

- En este estudio, a los 45 días de sembradas, las semillas de café no mostraron síntomas de la enfermedad; sin embargo, a los 75 días después de la siembra, las plántulas de café presentaron los síntomas, y signos del hongo, tanto en forma natural como artificial. La patogenicidad de *R. solani*, está relacionada con el grado de desarrollo de la plántula; por tanto, en las revisiones tempranas de los germinadores no necesariamente se puede detectar el desarrollo de esta enfermedad.

- El hongo *Trichoderma harzianum* (producto comercial Tricho-D), presentó la misma efectividad del tiabendazol (Mertect) en la disminución del ataque de *R. solani*, lo cual permite recomendarlo como un insumo de tecnología limpia para el manejo de volcamiento en semilleros de café.


## AGRADECIMIENTOS

- Al señor Carlos Alberto Zuluaga, de la Disciplina de Fitopatología de Cenicafé.

- Al personal de la Disciplina de Fitopatología de Cenicafé.

- Al personal de la empresa Orius Biotecnología.

## LITERATURA CITADA


1. AGRIOS, G. N. Fitopatología. México, Noriega Editores, 1998. 838 p.

2. FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA-FNC. BOGOTÁ. COLOMBIA; CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ-CENICAFÉ. CHINCHINÁ. COLOMBIA. Cartilla cafetera. Vol. 2. Chinchiná, Cenicafé, 2004. 230 p.

3. DUQUE O., H. Cómo reducir los costos de producción en la finca cafetera. 2. ed. Chinchiná, Cenicafé, 2004. 99 p.

4. GAITÁN B., A. L. Volcamiento o mal del tallito. *Rhizoctonia solani* Kühn. *In*: GIL V., L. F.; CASTRO C., B. L.; CADENA G., G. (Eds.). Enfermedades del cafeto en Colombia. Chinchiná, Cenicafé, 2003. p 85-90.

5. GÓMEZ Q., R.; BAEZA A., C. A. Control químico del volcamiento en germinadores de café. Avances Técnicos Cenicafé No 85: 1-3. 1979.

6. GUTIÉRREZ G., R. A.; CASTRO C., B. L.; RIVILLAS O., C. A. Manejo de focos de llagas radicales en cafetales. Avances Técnicos Cenicafé No327:1-8. 2004.

7. HOYOS, L.; CARDONA, A. J.; ORDUZ, S. *Trichoderma*: endófito avirulento en plantas. *In*: Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología, 26. Bogotá, Octubre 5-7, 2005. Memorias. Bogotá, ASCOLFI, 2005. p. 30.

8. INBAR, J.; ABRAMSKY, M.; COHEN, D.; CHET, I. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. European Journal of Plant Pathology 100: 337-346. 1994.

9. KOK, C. J.; HAGEMAN, P. E. J.; MAAS, P. W. T.; POSTMA, J.; ROOZEN, N. J. M.; VUURDE, V. VAN. Processed manure as carrier to introduce *Trichoderma harzianum*: Population dynamics and biocontrol effect on *Rhizoctonia solani*. Biocontrol Science and Technology 6 (2): 147-161. 1996.

10. LEGUIZAMÓN C., J. E. Control químico y biológico de *Rhizoctonia solani* Kühn en germinadores de café. *In*: CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ-CENICAFÉ. CHINCHINÁ. COLOMBIA. Informe anual de labores. Disciplina de Fitopatología. Octubre 1994 – Septiembre 1995. Chinchiná, Cenicafé, 1995.

11. LEWIS, J. A.; LARKIN, R. P.; ROGERS, D. L. A formulation of *Trichoderma* and *Gliocladium* to reduce damping-off caused by *R. solani* and saprophytic growth of the pathogen in soilless mix. Plant Disease 82 (5): 501-506. 1999.

12. RINCÓN G., A. A. Control biológico del volcamiento *Rhizoctonia solani* Kunh en semilleros de café con varios aislamientos de *Trichoderma* spp. Bogotá, Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía, 1991. 101 p. (Tesis: Ingeniero Agrónomo).

13. RINCÓN G., A. A.; LEGUIZAMÓN C., J. E.; ARBELÁEZ T., G. Control biológico de *Rhizoctonia solani* con *Trichoderma* spp. en semilleros de café. Cenicafé 43 (3): 73-83. 1992.

14. SANDOVAL, L. L. ; LÓPEZ, M. O. Hiperparasitismo de *Trichoderma harzianum*, *T. viride* y *T. pseudokoningii* sobre diferentes hongos fitopatógenos. Fitosanidad 5 (1): 41-44. 2001.

15. SCARSELLETTI, R.; FAULL, J. L. In vitro activity of 6-pentyl-α-pyrone, a metabolite of *Trichoderma harzianum*, in the inhibition of *R. solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Mycological Research 98 (10): 1207-1209. 1994.

16. YOSSEN, V.; VARGAS, G. S.; DÍAZ, M. DEL P.; OLMOS, C. Material compostado y *Trichoderma harzianum* como supresores de *Rhizoctonia solani* y promotores del crecimiento de lechuga. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología N° 68: 19-25. 2003.


**CAFICULTOR**

Enfermedades del cafeto como el volcamiento o mal del talluelo, pueden manejarse con productos biológicos, que ayudan a producir café de manera rentable y en armonía con el medio ambiente.


El uso de nombres comerciales en esta publicación tiene como propósito facilitar la identificación y en ningún momento significa su promoción.



Edición: Héctor Fabio Ospina Ospina
Sandra Milena Marín López
Fotografía: Ángela María Castro Toro
Gonzalo Hoyos Salazar
Diagramación: María del Rosario Rodríguez L.



Los trabajos suscritos por el personal técnico del Centro Nacional de Investigaciones de Café son parte de las investigaciones realizadas por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Sin embargo, tanto en este caso como en el de personas no pertenecientes a este Centro, las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente las opiniones de la Entidad.



Cenicafé
Centro Nacional de Investigaciones de Café
"Pedro Uribe Mejía"
Chinchiná, Caldas, Colombia
Tel. (6) 8506550 Fax. (6) 8504723
A.A. 2427 Manizales
www.cenicafe.org
cenicafe@cafedecolombia.com