

Prevención del mal seco de la malanga mediante tratamientos de origen natural y biológico

Prevention of the bad dry of the malanga by treatment of natural, biological origin

Michel Chamizo Nicao¹, Daymí Isabel Carrazana García², Ernesto Espinosa Cuéllar³, Annarella Chea González⁴, Mayra Acosta Suárez¹, Rene Cupull Santana⁴

¹ Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Santa Clara, Cuba

² Departamento de Farmacia, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Santa Clara, Cuba

³ Instituto Nacional en Viandas Tropicales, Apdo. 6, Santo Domingo, Villa Clara, Cuba

⁴ Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Santa Clara, Cuba

E-mail: mchamizo@ibp.co.cu

RESUMEN. Una de las causas principales de disminución del rendimiento del cultivo de la malanga (*Xanthosoma* spp.) es la pudrición radical por hongos del suelo (Mal seco), que suele propagarse mediante la semilla agámica utilizada como material de plantación. Una alternativa a su prevención es utilizar plantas “in vitro” libres de hongos. En la presente investigación se aborda la propuesta de la incorporación de productos de origen natural y biológico en la bolsa de polietileno de plantas climatizadas. Para determinar la efectividad en la prevención de la enfermedad se evaluaron: *Trichoderma harzianum*, Quitosana, sólido pulverulento de carapacho de langostas (*Panulirus argus* (Latreille)) y como control Mancozeb. Los clones evaluados fueron Blanca INIVIT y Blanca Venegas, considerados como medianamente susceptible y susceptible al Mal seco respectivamente. A cada bolsa de polietileno se le incorporó sustrato con propágulos de *Sclerotium rolfsii* (Sacc.). Para estimar el mecanismo de acción de los productos se realizaron pruebas de susceptibilidad “in vitro” (Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial y cultivo dual). Se confirmó la mayor susceptibilidad al Mal seco del clon Blanca Venegas. Todos los tratamientos estudiados disminuyeron su incidencia, destacándose *T. harzianum*. Esta cepa mostró un efecto tipo antagónico y una capacidad antagonista Clase 2; sin embargo la Quitosana y el carapacho de langosta no poseen efecto antifúngico directo, debiéndose su acción, probablemente, a la estimulación de la síntesis de proteínas relacionadas con la patogénesis de las plantas y/o a la formación de barreras estructurales de defensa en condiciones de campo.

Palabras clave: *Sclerotium rolfsii*, *Trichoderma harzianum*, Quitosana, *Panulirus argus*, carapacho de langosta.

ABSTRACT. One of the most important causes of the decrease of yields in taro crops (*Xanthosoma* spp.) is the roots rot caused by soil fungi (Bad dry) which it's propagated by the agamic seed used as propagules. One of the most important measures to prevent it is the use of “in vitro” plants free of fungi. In this research was studied the incorporation of several natural and biological products in the plots employed to acclimatize the “in vitro” plants. Were evaluated: *Trichoderma harzianum*, Chitosan, and lobster shell (*Panulirus argus* (Latreille)) and as control Mancozeb. The taro cultivars employed were Blanca INIVIT and Blanca Venegas, considerate as intermediated and susceptible respectively. Each plot was inoculated with propagules of *Sclerotium rolfsii* (Sacc.). In order to infer the action mechanism was conducted susceptible tests under “in vitro” conditions. The results showed that the most susceptible cultivar was Blanca Venegas. All treatments decrease the incidence of dry rot, among these. *T. harzianum* produced the highest effect, antagonist capacity and antagonist effect type. The Chitosan and the lobster shell do not showed antifungal direct effect and probably act for stimulation of the protein synthesis related with the pathogenesis or structural barrier of defense in natural conditions.

Key words: *Sclerotium rolfsii*, *Trichoderma harzianum*, chitosan, *Panulirus argus*, lobster shell.

INTRODUCCIÓN

Las características agrícolas de la malanga (*Xanthosoma* spp.) han contribuido al desarrollo de su cultivo en Cuba hasta adquirir importancia

económica. Esta ha sido cultivada tradicionalmente por los pequeños productores.

Una de las causas principales de la disminución del rendimiento del cultivo es la pudrición radical por hongos del suelo (Mal seco), que suele propagarse mediante la semilla agámica utilizada como material de plantación. Espinosa-Cuellar (2003) determinó que en Cuba los principales agentes causales de las pudriciones secas son: *Fusarium oxysporum* (Schltdl.), *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) y *Rhizoctonia solani* (Mart., Sacc), los que provocan cinco tipos de síntomas en *Xanthosoma*. Herrera-Isla (2012) describe una típica pudrición seca en cormos y cormelos, por lo general desde la base del pedúnculo, que puede abarcar desde un tercio hasta la totalidad del corno o cormelo; de color variable y con bordes, que en estado avanzado se manifiesta por su consistencia corchosa, seguido de la disgregación o destrucción del tejido afectado.

Dávila-Martínez y colaboradores (2011) identificaron hongos asociados a las pudriciones secas en malanga (Género *Xanthosoma*) en varias localidades de Cuba y encontraron especialmente invasivo a *S. rolfsii*. Con parte de los aislados obtenidos conformaron un cepario del que se toma la cepa utilizada en la presente investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los productos se incorporaron a las bolsas de polietileno de 30 plantas “in vitro” por tratamiento a razón de 3 g por bolsa. Las plantas de malanga *Xanthosoma* procedieron de la fase de climatización de la Biofábrica de Villa Clara, donde se habían mantenido en adaptación por dos meses, poseían una altura entre 15 y 20 cm con dos a tres hojas.

La cepa de *Trichoderma harzianum* T-34 procedió del Centro de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (C.R.E.E.) de la Empresa Agropecuaria “Valle del Yabú”. Esta es la cepa que se vende a los productores agrícolas.

La Quitosana se comercializa por la firma Chi Pro gmbH de Alemania con un 99,9 % de pureza.

El Material sólido pulverulento de carapacho de langostas procedentes del Combinado Pesquero de Caibarién en la Provincia de Villa Clara, fue obtenido luego de secar al sol el exoesqueleto de *P. argus* y tritarlo en un molino de martillo hasta lograr una granulometría menor a 1 mm. Esta es una de las posibles fuentes primarias de Quitina, precursora de la Quitosana.

Se recomiendan algunas prácticas culturales para prevenir el Mal seco, así como el empleo de fungicidas químicos medianamente eficientes; sin embargo el uso de productos naturales ha sido poco abordado. Otra alternativa a su prevención es utilizar plantas “in vitro” libres de hongos.

En la presente investigación se aborda la propuesta de la incorporación de productos de origen natural y biológico en la bolsa de polietileno de plantas climatizadas, lo que daría un valor agregado al producto. Para esto se evaluaron *Trichoderma harzianum* (cepa T-34) y Quitosana, así como un sólido pulverulento obtenido a partir del carapacho de langostas (*Panulirus argus* (Latreille)). Estos dos últimos productos no se utilizan en la agricultura cubana.

El trabajo tuvo como objetivos: Determinar la efectividad en la prevención de la enfermedad de los tratamientos de origen natural y biológico; y estimar el posible mecanismo de acción.

A cada bolsa de polietileno se le incorporaron 3g de sustrato con propágulos de *S. rolfsii* procedente del cepario del laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, aislado a partir de cormos de malanga enfermos de Mal seco. El hongo fue cultivado en Erlermeyer de 500 mL conteniendo 100g de arroz en cáscara en 100 mL de agua, esterilizados durante 1h a 121 °C.

Los clones de *Xanthosoma* evaluados fueron Blanca INIVIT y Blanca Venegas, considerados como medianamente susceptible y susceptible al Mal seco respectivamente. (Espinosa-Cuellar, 2003).

En parcelas de dos surcos de 15,6 m de largo de suelo se plantaron 30 plantas “in vitro” de malanga. La plantación, labores de fertilización y riego se realizaron según el Instructivo Técnico del cultivo de la malanga. (INIVIT, 2008)

Como tratamientos control se utilizaron 30 plantas “in vitro” a las que no se les adicionó ningún producto y otras 30 plantadas en una parcela a la que se le había incorporado Mancozeb, fungicida químico

preventivo y de contacto, de amplio espectro sobre diversas especies de hongos, por demás referido como muy efectivo en el control de *S. rolsfii* y *Fusarium* spp. aislados de pudriciones radicales de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) por Folgueras-Montiel y colaboradores (2010)

Se utilizó un Diseño experimental de bloques al azar con cuatro repeticiones para ambos clones. A los 11 meses se cosecharon 20 plantas por tratamiento y se determinó el porcentaje de plantas que presentaron síntomas de la enfermedad coincidentes con los descritos para el hongo patógeno objeto de estudio, con vista a determinar la efectividad de los tratamientos evaluados.

Se realizaron pruebas de susceptibilidad “in vitro” frente a la cepa de *S. rolsfii* utilizada en la investigación, con el objetivo de evaluar el efecto antifúngico y posible mecanismo de acción de la

Quitosana, la cepa de *T. harzianum*, y el material sólido pulverulento de carapacho de langosta. En el primer caso fue utilizado el procedimiento conocido como Inhibición del Crecimiento Radial midiéndose el diámetro de las colonias para calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento de *S. rolsfii* respecto al control sin producto (P.I.C.R.) en Papa Dextrosa Agar envenenado a razón de 3 g·L⁻¹ y en el segundo se siguió el método de cultivo dual en el mismo medio de cultivo, determinándose el P.I.C.R. de *S. rolsfii* a partir de la medición del radio de la colonia respecto al del control en placa de Petri sin *T. harzianum* según proponen Dennis y Webster (1971) y la capacidad antagonista según la escala de Bell y colaboradores (1982). Del carapacho triturado se incluyeron 3 g en el orificio del medio de cultivo en un montaje similar al método de cultivo dual. En todos los casos se hicieron cinco réplicas, evaluándose a las 48, 72 y 96 horas de incubación a 28 °C ±2 °C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la evaluación de la efectividad en la prevención de la enfermedad de los tratamientos de origen natural y biológico. Los resultados confirmaron la mayor

susceptibilidad al Mal seco del clon Blanca Venegas. Todos los tratamientos estudiados disminuyeron su incidencia, destacándose por su efectividad *T. harzianum*, que superó al control químico.

Tabla. Efectividad de tratamientos de origen natural y biológico en la prevención del Mal seco de la malanga *Xhantosoma* por *S. rolsfii*

Tratamiento/clones	Porcentaje de plantas enfermas (%) por repetición							
	Blanca Venegas				Blanca INIVIT			
Control sin producto	80	87	87	80	70	76	66	83
Mancozeb	56	50	57	57	40	53	40	50
<i>Trichoderma harzianum</i> T-34	40	43	40	33	30	40	23	27
Quitosana	57	53	57	50	43	50	53	47
Carapacho de langosta	66	57	63	50	56	50	50	53

Los síntomas presentes coincidieron con los descritos por Dávila-Martínez (2011) caracterizados por la presencia de tejido blando blanquecino, con

bordes oscuros. A partir de estas lesiones se reaisló al agente patógeno objeto de estudio (Figura 1).

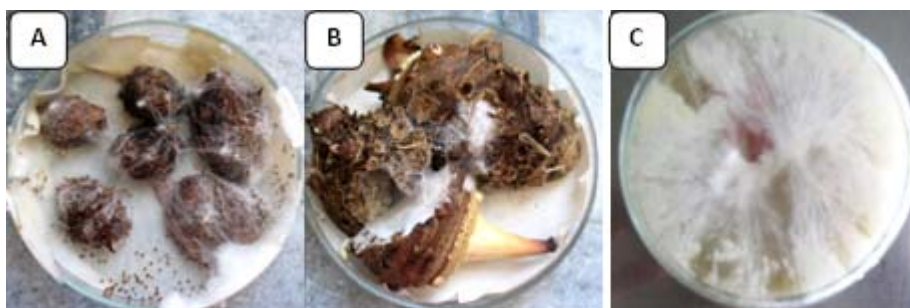


Figura 1. Cormelos del tratamiento Carapacho con presencia de micelio y esclerocios característicos de la especie *S. rolsfii* (A), Cormos del tratamiento Mancozeb que muestran el micelio característico de esta especie (B) y aislado obtenido a partir de estos (C)

No obstante se observaron además lesiones típicas de otros hongos del suelo, lo cual es explicable, al haberse realizado el experimento en condiciones de campo. A partir de estas se aisló a *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. géneros con especies asociadas a las pudriciones secas de *Xanthosoma* spp. en diferentes provincias de Cuba. (Dávila-Martínez y colaboradores, 2011)

La Quitosana y el carapacho de langosta no poseen efecto antifúngico directo ya que el P.I.C.R. fue de cero a los tres tiempos de evaluación. Su acción en campo se debió, probablemente, a la estimulación de la síntesis de proteínas relacionadas con la patogénesis de las plantas en condiciones de campo. Sin embargo Falcón-Rodríguez y colaboradores (2007), en el caso de la Quitosana, obtuvieron inhibición total en una prueba de susceptibilidad “in vitro” igual a la empleada en la presente investigación a las concentraciones de 1,5 y 2,0 g·L⁻¹ y utilizando un polímero de Quitosana elaborado por los propios autores. Además, determinaron la inducción de enzimas hidrolíticas defensivas (β 1-3 glucanasa, quitinasa, quitosanasa, fenilalanina amonio liasa y peroxidasa) en tabaco. Debe referirse que El Ghaouth y colaboradores (1992), demostraron que Quitosanas de similar grado de polimerización y diferentes grados de acetilación presentan actividad inhibitoria sobre el crecimiento de algunos hongos, correspondiendo las mayores inhibiciones con el menor grado de acetilación.

Otro posible mecanismo de acción es la formación de barreras estructurales de defensa que limitan la disponibilidad de nutrientes y le impiden físicamente avanzar hacia el interior del tejido vegetal. (Hernández-Lauzardo et al, 2005)

La Quitosana ha sido utilizada exitosamente en la agricultura para el control de enfermedades provocadas por hongos, bacterias y virus. (Hernández-Lauzardo et al, 2005; Lárez-Velásquez, 2008; Rodríguez-Pedroso et al, 2009)

A las 48 h de incubación se obtuvo un de P.I.C.R. de *S. rolsfii* frente a *T. harzianum* del 51,9 % y a las 72 h del 62,0 %, habiendo cubierto toda la

placa de Petri el cultivo del hongo patógeno en el control. A las 96 h el P.I.C.R. fue del 55,0%.

A las 96 h *T. harzianum* T-34 mostró una capacidad antagonista Clase 2 frente a *S. rolsfii*, al colonizar las 2/3 partes de la superficie del medio de cultivo (Figura 2C) donde se evidenció una acción de *T. harzianum* del tipo antibiosis.

Sueli-Correa y colaboradores (2007) en un experimento en el que se enfrentaron 20 especies de *Trichoderma* a un aislado de *S. rolsfii*, al utilizar el mismo procedimiento que el referido en la presente investigación para calcular el P.I.C.R., encontraron que todas las cepas inhibieron el crecimiento del hongo patógeno entre el 18,97 % y el 44,12 %, comparado con el crecimiento del control. Estos autores refieren las cinco Clases de capacidad antagónica de la escala de Bell en las cepas estudiadas.

Folgueras-Montiel y colaboradores (2008) destacan la actividad antagónica de una aislado de *Trichoderma* sp. sobre *F. solani* y *S. rolsfii*. Sin embargo estos autores detectaron una acción del hongo biocontrolador del tipo micoparasítica. León-Aguilar y colaboradores (2012) obtuvieron aislados de *Trichoderma* en suelos de la provincia de Matanzas, Cuba, que manifestaron distintamente ambos tipos de actividad frente a *S. rolsfii* y capacidades antagónicas de la Clase 1 y 2.

Algunos metabolitos secundarios pueden estar involucrados en la acción antagonista de especies de *Trichoderma* contra *S. rolsfii*, entre estos, los antibióticos (Dennis y Webster, 1971), una enzima quitinasa (Lima et al., 1997; El-Katatny et al., 2001) y la β -1,3 glucanasa. (El-Katatny et al., 2001)

Aunque en Cuba no se obtiene la Quitosana de forma industrial, ni existe tradición del uso en la agricultura del carapacho de crustáceos, ricos en quitina, tal como la langosta, resulta promisorio su uso. Esto se justifica por la relativa facilidad de la obtención del segundo, lo que además contribuiría a solucionar problemas de contaminación debido a la acumulación y posterior desecho en zonas costeras del exoesqueleto de estos animales por la Industria Pesquera. Para la obtención de la Quitosana se requerirían inversiones de mayor costo.



Figura 2. Susceptibilidad “in vitro” de *S. rolsfii* frente a Quitosana (A), Carapacho de langosta (B) y *Trichoderma harzianum* T-34 (C). Tiempo de evaluación: 96 h

CONCLUSIONES

La incorporación de *Trichoderma harzianum* T-34 a la bolsa de plantas “in vitro” climatizadas de malanga (*Xanthosoma* spp.) es una alternativa

fundamentada microbiológicamente, a utilizar en la prevención del Mal seco por hongos del suelo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bell, D. K.; H. D. Wells; C. R. Markham: In Vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72:379-382; 1982.
2. Dávila-Martínez, A.: Las pudriciones secas de la malanga (*Xanthosoma* y *Colocasia*). Etiología y sintomatología. Tesis en opción al Título Académico de Máster en Agricultura Sostenible, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Villa Clara, Cuba. 2011.
3. Dávila-Martínez, A.; L. Herrera-Isla; M. Folgueras-Montiel; E. Espinosa-Cuellar: Relación de hongos asociados a las pudriciones secas en malanga *Xanthosoma* spp. en varias provincias de Cuba. *Centro Agrícola*. 2011, 38(4): 13-19.
4. Dennis, C.; J. Webster: Antagonistic Properties of Species-Groups of *Trichoderma* I. Production of Non-Volatile Antibiotics. *Transactions British Mycological Society*. 57:25-39, 1971.
5. El Ghaouth, A.; J. Arul; A. Asselin; N. Benhamou: Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*. *Mycological Research*. 1992, 96: 769-779.
6. El-Katatny, M. H.; M. Gudelj; K. H. Robra; M. A. Elnaghy; G. M. Gübitz: Characterization of a Chitinase and an Endo- β -1,3-Glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolsfii*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2001, 56:137-143.
7. Espinosa-Cuellar, E: Estudio de las pudriciones secas en el cultivo de la malanga (*Xanthosoma* spp.) y *Colocasia esculenta* Schott. Tesis en opción al Título Académico de Máster en Agricultura Sostenible, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Villa Clara, Cuba. 2003.
8. Falcón-Rodríguez, A.; B. D. Costales-Menéndez; E. Ortega-Delgado; O. León-Díaz; J. C. Cabrera-Pino; M. A. Martínez-Téllez: Evaluation of chitosan as an inhibitor of soil-borne pathogens and as an elicitor of defense markers and resistance in tobacco plants. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2007, 5 (4): 533-541.
9. Folgueras-Montiel, M.; L. Herrera-Isla; S. Rodríguez-Morales; X. Rojas-Moya: Efectividad biológica “in vitro” de varios fungicidas frente a patógenos causantes de pudriciones radicales en yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Centro Agrícola*. 2010, 37(1): 11-15.
10. Folgueras-Montiel, M.; L. Herrera-Isla; S. Rodríguez-Morales; X. Rojas-Moya: Antibiosis “in vitro” entre el antagonista *Trichoderma* spp. y organismos patógenos causantes de pudriciones radicales en yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Centro Agrícola*. 2008, 35(2): 51-53.
11. Hernández-Lauzardo, A. N.; S. Bautista-Baños; M. G. Velázquez del Valle; S. L. Rodríguez-Ambriz; M. L. Corona-Rangel; A. Solano-Navarro; E. Bosquez-Molina: Potencial del Quitosano en el control de las enfermedades postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2005, 23 (2): 198-205.

12. Herrera-Isla, L. Los hongos fitopatógenos de los suelos tropicales y subtropicales. Ed. Académica Española. INIVIT, Cuba. 2012.
13. INIVIT. Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales. Ministerio de la Agricultura. Instructivo Técnico del Cultivo de la Malanga. Villa Clara, Cuba, 2008, 13 pp.
14. Lárez-Velásquez, C.: Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. Revista UDO Agrícola 8 (1): 1-22, 2008.
15. León-Aguilar, R.; S. C. Pino-Morera; B. Martínez-Coca; R. Liriano-Gonzalez; D. B. Núñez-Sosa. Aislamiento y selección de cepas de *Trichoderma* y su efecto antagonista frente a *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. *Centro Agrícola* 39(2):43-48, 2012.
16. Lima, L. H. C.; C. J. Ulhoa; A. P. Fernandes; C. R. Felix: Purification of a Chitinase from *Trichoderma* sp. and its action on *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* cell walls. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1997, 43: 31-37.
17. Rodríguez-Pedroso, A.T.; M. A. Ramírez-Arrebato; D. Rivero-González; E. Bosquez-Molina; L. Barrera-Necha; S. Bautista-Baños: Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la Quitosana en microorganismos fitopatógenos. *Revista Chapingo. Serie Horticultura.* 15 (3): 307-317, 2009.
18. Sueli -Corrêa, M. Mello; Z. R. Ávila; L. Minaré-Braúna; R. R. Pádua; D. Gomes: Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Fitosanidad.* 2007, 11(1): 3-9.

Recibido: 18/12 /2013

Aceptado: 10/03/2014