

Empleo de cepas de bacterias antagonistas en el control de *Stemphylium solani* Webber en tomate bajo cultivo protegido

Alexander Bernal (1), Ivey Gato Martínez (1), Manuel Díaz Castellanos (2), Lidcay Herrera Isla (2) y Benedicto Martínez (2)

- (1) Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, carretera a Camajuaní km 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.
- (2) Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
- (3) Dpto. Fitopatología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).

E-mail: alexanderbc@agronet.uclv.edu.cu
abernal7315@yahoo.es

RESUMEN: El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la utilización de cuatro cepas bacterianas antagonistas en el control de *Stemphylium solani* bajo condiciones protegidas. El experimento se realizó en una instalación de cultivo protegido modelo Diente de Sierra sobre el híbrido de tomate América 3. El diseño del experimento consistió en la utilización de una hilera de 60 plantas por tratamiento. Para ello, se utilizaron las bacterianas *Pseudomonas aeruginosa*, cepa 7NSK 2; *Pseudomonas fluorescens*, cepa CMR 12; *Serratia plymuthica*, cepa 1270 y *Bacillus subtilis* cepa ATCC 6051. Los inóculos bacterianos se prepararon a partir de medio King B y la concentración de las suspensiones fue ajustada a 10^8 UFC/mL. Las aplicaciones se realizaron cada siete días con un atomizador manual en horas de la tarde. Las evaluaciones consistieron en evaluar en un total de 45 plantas por tratamiento la incidencia de *Stemphylium solani* en tres momentos y con una frecuencia semanal. Los resultados mostraron diferencias estadísticas entre las bacterias antagonistas en el control de *Stemphylium solana*. Los menores porcentajes de incidencia (< 25 %) en todos los casos con la bacteria *B. subtilis* hasta la fase fenológica de formación del tercer racimo floral. El empleo de esta bacteria antagonista en las casas de cultivos protegidos de tomate constituye una alternativa ambientalmente sana.

Palabras clave: *Stemphylium solani*, tomate, cultivo protegido.

ABSTRACT. With the aim to evaluate the use of four antagonistic bacteria against *Stemphylium solani* was carry out an study under greenhouse conditions. In this experiment was used America 3 tomato hybrid. The design of the experiment consisted on the use of an array of 60 plants for treatments. For it were used the bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, strain 7NSK 2, *Pseudomonas fluorescens*, strain CMR 12, *Serratia plymuthica*, strain 1270 and *Bacillus subtilis* strain ATCC 6051. The inoculums bacterial was made on King B medium and the suspensions concentration of them were adjusted 10^8 UFC/ml. The applications were carried out every seven days with a manual atomizer in hours of the afternoon. The evaluations consisted on evaluating in a total of 45 plants for treatments the incidence of the disease in three moments and with a weekly frequency. The results showed statistical differences among the antagonistic bacteria in the control of *Stemphylium solani*, being achieved the smallest percentages of incidence (< 25 %) in all the cases with the bacteria *B. subtilis* until the phonological phase of the third floral formation cluster. The use of this antagonistic bacterium in the tomato greenhouses constitutes an alternative healthy environmentally.

Key words: *Stemphylium solani*, tomato, greenhouse

INTRODUCCIÓN

El control de enfermedades fúngicas que afectan a cultivos de importancia económica ha sido siempre una preocupación de los productores. Encontrar alternativas que abaraten el costo de las producciones y que tengan menor repercusión sobre el ambiente

ha sido una línea de investigación en los últimos tiempos. A nivel mundial, se han realizado grandes esfuerzos para encontrar nuevos controles biológicos que cumplan con estos requisitos, entre los que se encuentra el empleo de bacterias antagonistas debido a sus potencialidades biocontroladoras (González y Fragoso, 2002).

Algunas bacterias, como *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* spp. y *Serratia* spp. son actualmente utilizadas como organismos antagonistas (Abbott, 1997).

Varios autores han descrito los mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos, entre los que se citan la antibiosis, la competencia por espacio o por nutrientes, las interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática), así como la predación e inducción de resistencia (Fernández-Larrea, 2001; Soffia, 2005).

Algunas de estas bacterias como *B. subtilis* tienen la propiedad de producir endotoxinas, antibióticos y proteínas con actividad antifúngica (Agrios, 1997); *P. fluorescens* produce antibióticos y sideróforos que son muy activos en el suelo (Laha *et al.*, 1996) y *Serratia plymuthica* tiene alta actividad quitinolítica y propiedades antifúngicas (Kurze *et al.*, 2001).

Por ello, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la utilización de cuatro bacterias antagonistas como medida preventiva en el control de fitopatógenos fúngicos foliares del tomate bajo condiciones protegidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Centro de Investigaciones Agropecuarias y en una instalación de cultivo protegido modelo Diente de Sierra C-7, ubicada en el Instituto de Biotecnología de las Plantas, pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas; en el período comprendido entre septiembre de 2005 a junio de 2006.

Se utilizó el híbrido "América 3" de procedencia española plantado sobre zeolita.

Los tratamientos empleados fueron:

1. *Bacillus subtilis* (B. s; cepa ATCC 6051).
2. *Pseudomonas aeruginosa* (P.a; cepa 7NSK 2).
3. *Pseudomonas fluorescens* (P. f; cepa CMR 12).
4. *Serratia plymuthica* (S. p; cepa 1270).

5. Oxicloruro de cobre 75 % PH a razón de 2 g/L (Ox.Cu).
6. Testigo (T).

El inóculo se preparó a partir de placas de Petri con medio King B, sembradas con cada bacteria por separado e incubadas por 48 horas en condiciones de oscuridad. Seguidamente, se vertieron 10 mL de agua destilada estéril en cada placa de Petri y se barrió todo el crecimiento bacteriano con un asa de siembra. Posteriormente, se filtraron las suspensiones con la ayuda de una gasa. La concentración de las suspensiones bacterianas fue ajustada a 2×10^8 UFC/mL (NCCLS, 1997).

Se utilizó una hilera para cada tratamiento con 60 plantas. El tratamiento testigo se intercaló entre los restantes tratamientos. A los 15 días post plantación se inició el tratamiento foliar con una frecuencia de 7 días, hasta la fase fenológica de aparición del tercer racimo floral. Se empleó un atomizador manual. Todas las aplicaciones se realizaron en horas de la tarde.

Las evaluaciones de intensidad de ataque de *S. solani* se realizaron en el follaje de 45 plantas para cada tratamiento. Se empleó la escala de seis grados de Rivas (1981) y se calculó el porcentaje de intensidad de ataque según la fórmula de Townsend y Heuberger (1943). La primera evaluación se efectuó a los 15 días después de realizada la plantación y continuaron cada dos días hasta detectar los primeros síntomas, momento a partir del cual las evaluaciones se realizaron semanalmente.

Los tratamientos con insecticidas se realizaron de acuerdo al programa de defensa fitosanitario del cultivo (MINAGRI, 2003). Se utilizó el riego por aspersión (aéreo), el cual se suspendió 48 horas después de los tratamientos.

Escala para la Evaluación de la intensidad de ataque

Grado	Descripción
0	Sin síntomas
1	Aparición de las primeras manchas
2	Hasta un 10 % del área foliar afectada
3	Desde el 11 hasta el 25 % del área foliar afectada
4	Desde el 26 hasta el 50 % del área foliar afectada
5	Más del 50 % del área foliar afectada

$$I = \frac{(\sum (n \cdot v))}{i \cdot N} \cdot 100$$

donde:

% de intensidad de ataque del patógeno

n- total de plantas con un grado determinado de la escala

v- grado respectivo de la escala

N- total de plantas evaluadas

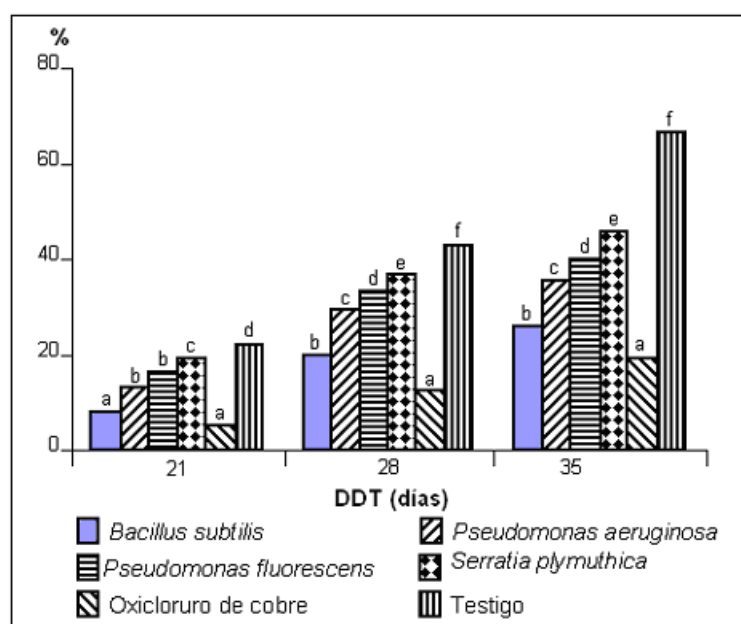
grado máximo de la escala (i = 5)

El procesamiento estadístico de los datos consistió en el análisis de varianza de clasificación simple, posterior a la comprobación de los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad. Se realizaron comparaciones de medias mediante la prueba de Duncan. Se emplearon los paquetes estadísticos SPSS versión 8.0 y STATGRAPHICS Plus 4.1 sobre Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra los resultados obtenidos con la utilización de diferentes tratamientos sobre la incidencia de *S. solani* en condiciones de cultivo protegido, en tres momentos de evaluación. Todos los tratamientos presentaron mayor efectividad que el testigo. A los 21 días los mejores resultados se obtuvieron con oxiclورو de cobre y *B. subtilis* (5 y 8 %, respectivamente) sin diferencia estadística entre ellos. Las mayores afectaciones se obtuvieron con la aplicación de *S. plymuthica* (19 %) con diferencias estadísticas con los demás tratamientos; valores intermedios presentaron *P. aeruginosa* y *P. fluorescens*.

En la segunda y tercera evaluación los mejores resultados se obtuvieron con el testigo estándar (oxiclورو de cobre); le siguió *B. subtilis* con diferencia significativa con los demás tratamientos. Las mayores afectaciones se manifestaron con la aplicación de *S. plymuthica* (33 y 46 %), respectivamente.



Letras desiguales difieren por la prueba de Duncan

Figura 1. Intensidad de ataque de *S. solani* en el cultivo del tomate bajo condiciones de producción.

Los resultados obtenidos coinciden con Butt *et al.* (1999) los que destacan que *B. subtilis* es conocido como antagonista de muchos hongos patógenos vegetales. Este antagonismo es logrado a través de diversos mecanismos que incluyen la

competencia por nutrientes, la exclusión de sitios; la colonización de la bacteria en el patógeno y/o la liberación de compuestos celulares durante el crecimiento, en orden de eliminar o reducir los competidores en su medio ambiente inmediato.

Ferreira *et al.* (1991) reportaron a *B. subtilis* como un microorganismo altamente antagonico de los patógenos que afectan el crecimiento de las plantas debido a la continua producción de antibióticos y metabolitos volátiles anti-fúngicos.

CONCLUSIONES

1. Se encontraron diferencias en la actividad biocontroladora de las diferentes bacterias antagonistas frente a *Stemphylium solani*.
2. La cepa bacteriana más efectiva fue *Bacillus subtilis* en los tres momentos evaluados.

BIBLIOGRAFÍA

Abbott, R. (1997): Trichodex 25 % WP: La alternativa biológica. Área de desarrollo, en Botrytis: nuevas estrategias de control cultural, biológica y química en uva de mesa. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Chile, Santiago de Chile, pp. 82-88.

Agrios, G. (1997): *Plant Pathology* 4th Ed., Academic Press, San Diego, p. 635.

Butt, T. M.; J. G. Raíz and K. A. Powel (1999): Microbial biopesticides: The European scene. In: Biopesticides. Use and delivery. Eds. F.R. Hill & J.J. Menn. Humana Press, NJ., pp.23-24.

Fernández-Larrea, V. O. (2001): "Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario". *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) 62: 96-100.

Ferreira, J. H.; F. Mather and A. C. Tomas (1991): "Biological control of Eutipa lata grapevine by and antagonistic strain of *Bacillus subtilis*", *Phytopathology*. 81: 283-287.

González, V. y S. Fragoso. 2002. *Bacillus subtilis*. En: <http://www2.cbm.uam.es/microali/pdfs/B.subtilis.pdf> Consultado el 1 de marzo de 2006.

Kurze, S.; H. Bahl; R. Dahl and G. Berg (2001): "Biological control of fungal Strawberry diseases". *Plant Disease*, p.529.

Laha, G. S.; R. P.Sing; J. P.Verna (1996): Role of growth promoting rhizobacteria in plant disease

management In: V. P. Agnihotri; O. Prakash; R. Kishun; K. Misra (eds.), Disease Scenario in Crop Plants, Vol.II. Cereals, Pulses, Oilseeds and Crop. Int'l Books and Periodical, New Delhi, India, pp. 233-241.

MINAGRI (2003): Manual para la producción protegida de hortalizas. IIHLD, La Habana, 113 pp.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (1997): Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test. Document M7-63 Villanova, Pennsylvania: National Committee for Clinical Laboratory Standards.

Rivas Figueredo, E. M. (1981): Biología, epifitiología y lucha contra *Stemphylium solani* Weeber en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Tesis para optar por el grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, ISCAH, 87 pp.

Soffia, Verónica (2005): Utilización del biofungicida SERENADE® en el control de enfermedades de importancia económica en frutales. En http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronomicas/montealegre_j/5.html. Consultado el 10 de abril de 2006.

Townsend, G. R. and I. W Heuberger (1943): "Method for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments". *Plant Diseases Report*. 27 (17): 340-343.

Recibido: 02/06/06

Aceptado: 20/06/06