



# Efecto biofungicida de *Trichoderma harzianum* y de extractos de *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis* y *Ricinus communis* sobre *Rhizoctonia solani*.

Biofungicide-effect of *Trichoderma harzianum* and extracts of *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis*, and *Ricinus communis* on *Rhizoctonia solani*.

Katty Gonza Carnero<sup>1</sup>, Eloy López Medina<sup>2</sup>, Carmen Zavaleta Salvatierra<sup>1</sup>,  
Jordan De La Cruz Castillo<sup>1</sup> y William Mendoza Miranda<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Escuela AP de Ciencias Biológicas. <sup>2</sup>Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. (aracely152@hotmail.com)

## RESUMEN

*Solanum tuberosum* "papa", es un cultivo muy afectado por plagas y enfermedades. Las de mayor impacto son la rizoctoniasis, causada por el hongo *Rhizoctonia solani* que afecta las partes subterráneas de la planta, produciéndose canchales en brotes, tallos, estolones y raíces, lo que disminuye la emergencia de la planta y la calidad comercial del tubérculo. El empleo del hongo antagonista y de extractos de algunos vegetales para el manejo de *R. solani* constituye una alternativa y un avance en estrategias de control biológico, ya que se pueden obtener en cantidades suficientes como para ser aplicados en cultivos comerciales, con la consiguiente reducción en el uso de fungicidas de origen químico. El objetivo del presente trabajo es determinar el efecto de *Trichoderma harzianum* y extractos vegetales de *Eucalyptus globulus* "eucalipto", *Rosmarinus officinalis* "romero" y *Ricinus communis* "higuerilla" como biofungicidas para el control de *Rhizoctonia solani* en tubérculos de papa. Para ello, se diseñó un estudio experimental cuantitativo dirigido a encontrar la mayor actividad antimicótica representada en los halos de inhibición que tuvieron los extractos obtenidos de las tres especies vegetales y del hongo antagonista de *R. solani*. Se encontró que el extracto de eucalipto (T1), presentó el mayor efecto inhibitorio ( $p < 0,05$ ) y que el extracto de las hojas de romero (T2) e higuerilla (T3) no presentaron efecto inhibitorio. Asimismo, que *T. harzianum* es un excelente antagonista porque crece y cubre completamente la colonia de *R. solani*.

**Palabras clave.** *Trichoderma harzianum*, extractos vegetales, *Solanum tuberosum*, *Rhizoctonia solani*, *Ricinus communis*, *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis*.

## ABSTRACT

*Solanum tuberosum* "potato" is a crop severely affected by pests and diseases. Being one of them and rizoctoniasis greater impact, caused by the fungus *Rhizoctonia solani*, which is of great importance in the cultivation of potatoes as affected underground parts of the plant, causing cankers on shoots, stems, stolons and roots, which reduces plant emergence and tuber commercial quality, hence the possibility of using the antagonist fungi and plant extracts for the management of *Rhizoctonia solani* in potato *Solanum tuberosum* are an alternative and advancement strategies biological control, since these can be obtained in sufficient quantities for use in commercial crops, with consequent reduction in fungicide chemical use. The aim this work was to determine the effect of *Trichoderma harzianum* and vegetable extracts *Eucalyptus globulus* "eucalyptus" *Rosmarinus officinalis* "rosemary" and *Ricinus communis* "castor" as biofungicides to control *R. solani* potato



tubers. For this, it was conducted a quantitative experimental study designed to find the greatest antifungal activity displayed in halos inhibition of the extracts obtained had three plant species. It was found that the extract from the leaves of eucalyptus (T1), had the highest inhibitory effect ( $p < 0,05$ ), and extract from the leaves of rosemary (T2), and castor (T3) had no inhibitory effect, as well as, that *T. harzianum* is an excellent antagonist because it grows and completely covers the colony of *R. solani*.

**Keywords.** *Trichoderma harzianum*, plant extracts, fungicide, *Solanum tuberosum*, *Rhizoctonia solani*, *Ricinus communis*, *Eucalyptus globules*, *Rosmarinus officinalis*

## INTRODUCCION

Las enfermedades producidas por microorganismos fitopatógenos, tales como bacterias, nematodos u hongos, constituyen la mayor causa de pérdida en la producción agrícola, tanto en cosecha como en post cosecha. Dentro de los distintos fitopatógenos, los hongos constituyen uno de los principales grupos tanto por la diversidad de especies existentes como por las pérdidas que originan. <sup>(1)</sup>

La papa (*Solanum tuberosum*) es un cultivo muy afectado por plagas y enfermedades. Entre las enfermedades de mayor impacto, se encuentra la rizoctoniasis causado por el hongo *Rhizoctonia solani* Kühn, el cual es de gran importancia en el cultivo de la papa, ya que se ven afectadas las partes subterráneas de la planta, produciéndose canchales en brotes, tallos, estolones y raíces, lo que disminuye la emergencia de plantas, además de la costra negra, que corresponde a la formación de esclerocios sobre la piel de los tubérculos, disminuyendo su calidad comercial.<sup>(2)</sup>

La utilización extensiva de compuestos químicos para el control de enfermedades, la emergencia de patógenos resistentes a fungicidas y el deterioro en la salud de productores y consumidores, ha promovido la búsqueda de alternativas viables que garanticen una mayor sostenibilidad en la producción agrícola, minimizando el impacto sobre el medio ambiente. El control biológico de enfermedades con agentes microbianos como hongos y extractos vegetales son una de estas alternativas sostenibles ya que no solo disminuye el uso de agroquímicos (reduciendo los costos), sino que se puede manejar el cultivo con buena producción, reducir la incidencia de la enfermedad y a la vez asegurar la salud de aquellos que trabajan en las plantaciones<sup>(3)</sup>.

Uno de los agentes microbianos más estudiados por su impacto positivo en el control de enfermedades es el hongo *Trichoderma harzianum*. Éste tiene efectos significativos en la reducción de enfermedades fúngicas y una importante acción cuando se realiza su aplicación de forma preventiva al suelo. Es un eficiente controlador biológico que está siendo ampliamente usado en agricultura como agente de biocontrolador debido a su habilidad para colonizar sustratos rápidamente, inducir resistencia sistémica adquirida en plantas, promover el crecimiento vegetal y poseer actividad antagonista contra un amplio rango de hongos patógenos <sup>(6)</sup>.

Los extractos de plantas constan de una combinación de elementos activos producto del metabolismo vegetal. La gran cantidad de sustancias químicas que contiene interacciona de modo sinérgico, es decir, dan como resultado efectos superiores al efecto de los mismos elementos por separado. Las sustancias coadyuvantes, contenidas en menor proporción y sólo aparentemente superfluas, hacen posible el desarrollo óptimo de la sustancia principal o principio activo, al fomentar su absorción y acelerar y reforzar de esta manera el efecto antimicótico <sup>(4)</sup>.

A través de las rutas de obtención de los metabolitos primarios, y por procesos bioquímicos ayudados por enzimas, se generan metabolitos secundarios que son los componentes finales del metabolismo de las plantas. Estos metabolitos secundarios (alcaloides, esteroides, flavonoides, terpenoides, quinonas, entre otros) deben ser extraídos de la forma en que se presenten tratando de no alterar sus propiedades biológicas (Sanabria, 1983). Por lo tanto, los extractos de plantas constituyen una fuente natural importante en la búsqueda de nuevos compuestos con actividad fungistática de interés, cuya comprensión de sus procesos bioquímicos ha perfilado una nueva estrategia orientada al manejo de estas defensas químicas contra microorganismos <sup>(7)</sup>.

El eucalipto tiene muchas propiedades benéficas para la salud humana y animal así como también para el control de enfermedades causadas por hongos debido a su composición es decir sus principios activos. El principal componente del aceite esencial es el éter óxido terpénico cineol o eucaliptol,



constituyendo el 70-80%. Asimismo, tanto las hojas como las pequeñas Flores de romero tienen propiedades anti fúngicas. (4). Por su parte las semillas de la higuera contienen alcaloides (ricina y ricinina) y aceite el cual está compuesto por una mezcla de triglicéridos,  $\beta$ -sistosterol y pequeñas cantidades de ácidos linoleico y esteárico. Por lo tanto sus semillas y sus hojas crudas son venenosas

La posibilidad de emplear al hongo antagonista y los extractos vegetales para el manejo de *Rhizoctonia solani* en papa *solanum tuberosum* son una alternativa y un avance en estrategias de control biológico, ya que estos se pueden obtener en cantidades suficientes para aplicaciones en cultivos comerciales, con la consiguiente reducción en el uso de fungicidas de origen químico. (3)

Por lo tanto el objeto del presente trabajo es determinar el efecto de *Trichoderma harzianum* como agente antagonista de *Rhizoctonia solani*, así como el uso de extractos vegetales de *Eucalyptus globulus* "eucalipto", *Rosmarinus officinalis* "romero" y *Ricinus communis* "higuera" para reducir daños causados por este patógeno en tubérculos de papa.

## MATERIAL Y METODOS

### Material biológico

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fisiología Y cultivos de tejidos vegetales de la Universidad Nacional de Trujillo. Las hojas de *Eucalyptus globulus* "eucalipto", *Rosmarinus officinalis* "romero" y *Ricinus communis* "higuera", de apariencia sana, fueron recolectadas en los alrededores de la Universidad Nacional de Trujillo, escogiéndose para la investigación las más grandes y las más antiguas. La identificación taxonómica se hizo en el Herbario Truxillense. Por su parte, el hongo antagonista se obtuvo de manera comercial.

### Aislamiento y cultivo de *Rh. solani*

La obtención de los hongos fitopatógenos se hizo directamente de papas con síntomas evidentes compatibles con el ataque por *Rh. solani*. El cultivo se hizo en Agar papa (20g de papa + 50 mL de agua, cocción hasta presentar un aspecto espeso, filtrado y aforamiento hasta los 100 mL con agua destilada, + 2g de azúcar y 2g de agar-agar, autoclavado durante dos horas). Para el aislamiento se practicaron monocultivos en frascos de penicilina con el mismo medio de cultivo. La identificación se hizo por observación microscópica de sus características morfológicas.

### Preparación de los extractos y confrontación

Para la preparación de los extractos se hizo la desinfestación de las hojas con lejía al 2% y agua destilada respectivamente, seguidamente las hojas se secaron a temperatura ambiente. Para obtener los extractos se realizó una extracción en frío, para ello las hojas de cada especie fueron cortadas en cuadraditos de 1 cm<sup>2</sup>, luego se pesaron 50 gr y se colocaron en una botella de vidrio de 500 ml posteriormente se adicionó el solvente etanol 96° y se dejó en maceración durante 7 días.

Pasados los 7 días de maceración se realizó una extracción en calor utilizando un equipo de reflujo, por aproximadamente una hora; luego cada extracto se colocó en placas Petri y con ayuda de un ventilador se procedió a evaporar el alcohol, hasta la obtención de un concentrado. Luego se procedió a confrontar el hongo aislado con el extracto de *Eucalyptus globulus* "eucalipto", *Rosmarinus officinalis* "romero" y *Ricinus communis* "higuera" que correspondieron al tratamiento 1, tratamiento 2 y tratamiento 3 respectivamente

### Análisis estadístico

El análisis estadístico del presente trabajo se determinó por medio de la prueba ANOVA y la comparación de medias de Duncan

Para la preparación del hongo *Trichoderma harzianum* se procedió sembrar el hongo antagonista en placas de Petri conteniendo Agar papa y se esperó que crezca por cinco días. Luego se sembró en la misma placa el hongo *Rhizoctonia solani* en posiciones opuestas y equidistantes al hongo antagonista y se dejó incubar a temperatura ambiental ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante siete días. A los siete días de incubación se evaluó el grado de antagonismo según la escala de Bell y col, donde:

**Grado Antagónico 1:** *Trichoderma harzianum*. Crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre la superficie del medio de cultivo.

**Grado Antagónico 2:** *Trichoderma harzianum* Crece al menos en las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.

**Grado Antagónico 3:** *Trichoderma harzianum* Y el patógeno cubren aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo.



**Grado Antagónico 4:** El patógeno crece al menos en las dos terceras partes del medio de cultivo limitando el crecimiento de *Trichoderma harzianum*.

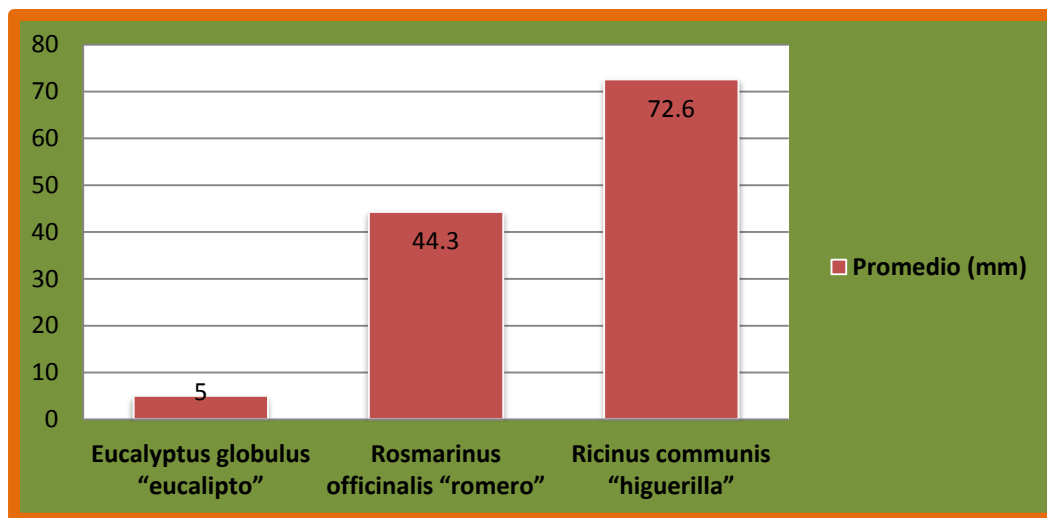
**Grado Antagónico 5:** El patógeno crece sobre la colonia de *Trichoderma harzianum* ocupando toda la superficie del medio de cultivo.

## RESULTADOS

Se encontró que el extracto de eucalipto produjo los halos mas pequeños en el cultivo de *Rh. Solani*, asi como el porcentaje mayor de inhibición (Tabla 1 y 2, Figs. 1 y 2).

**Tabla 1:** Tamaño de los halos de inhibición (mm) promedio, del extracto de *Eucalyptus globulus* “eucalipto”, *Rosmarinus officinalis* “romero” y *Ricinus communis* “higuerilla con las concentración de 1 % en la inhibición de crecimiento de *Rhizoctonia solani*.

TRATAMIENTOS	CONTROL	Repetición 1 (mm)	Repetición 2 (mm)	Repetición 3 (mm)	Promedio (mm)
<i>Eucalyptus globulus</i> “eucalipto” (T 1)	35	3	5	7	5
<i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” (T 2)	90	40	51	42	44.3
<i>Ricinus communis</i> “higuerilla” (T 3)	85	75	70	73	72,6



**Fig. 1:** promedio de los halos de inhibición (mm) Vs. Extractos vegetales con sus respectivas concentraciones.



**Tabla 2:** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial en mm, del extracto de *Eucalyptus globulus* "eucalipto", *Rosmarinus officinalis* "romero" y *Ricinus communis* "higuerilla" con las concentraciones de 1 % en la inhibición de crecimiento de *Rhizoctonia solani*.

Extracto	Repetición 1(%)	Repetición 2 (%)	Repetición 3 (%)
<i>Eucalyptus globulus</i> "eucalipto"	91	85.7	80
<i>Rosmarinus officinalis</i> "romero"	55.6	43.3	53.3
<i>Ricinus communis</i> "higuerilla"	11.8	17.6	14.2

**Tabla ANOVA para porcentaje de inhibición por extractos**

Fuente	Suma de Cuadrados	G I	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7569.63	2	3784.81	140.56	0.0000
Intra grupos	161.56	6	26.9267		
Total (Corr.)	7731.19	8			

**Pruebas de Múltiple Rangos para porcentaje de inhibición por extractos**

Método: 95.0 porcentaje Duncan

Extractos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
<i>Ricinus communis</i> "higuerilla"	3	14.5333	X
<i>Rosmarinus officinalis</i> "romero"	3	50.7667	X
<i>Eucalyptus globulus</i> "eucalipto"	3	85.5667	X

Contraste	Sig	Diferencia
<i>Eucalyptus globulus</i> "eucalipto" - <i>Ricinus communis</i> "higuerilla"	*	71.0333
<i>Eucalyptus globulus</i> "eucalipto" - <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero"	*	34.8
<i>Ricinus communis</i> "higuerilla" - <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero"	*	-36.2333

\* indica una diferencia significativa.

## DISCUSIÓN

De acuerdo con el análisis de varianza se obtuvo con respecto a los tratamientos un valor **P** de 0.0000 el cual nos indica que existe diferencia significativa entre los tratamientos con un nivel de 95 % de confianza, por lo que se rechaza la hipótesis nula.

Para hallar dicha diferencia significativa se procedió a realizar la Prueba Duncan, la que nos reveló la no existencia de homogeneidad entre los tratamientos; siendo el mejor tratamiento 1 cuyo rango de inhibición del hongo *Rhizoctonia solani* fue mayor.



**Fig. 2:** Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre *Rizoctonia solani*, extraído de tubérculos de papa (*solanum tuberosum*): **Grado Antagónico 1:** *Trichoderma harzainum*. Crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre la superficie del medio de cultivo.

En la gráfica N° 2 Se observa que a los siete días de incubación el grado de antagonismo según la escala de Bell y col, corresponde al de tipo 1 donde, *Trichoderma harzainum* Crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre la superficie del medio de cultivo.

### CONCLUSIONES

- El Tratamiento 1 que corresponde al extracto obtenido a partir de las hojas de *Eucalyptus globulus* “eucalipto, presento el mayor efecto inhibitorio en el crecimiento de *Rizoctonia solani*
- Los tratamientos 2 y 3 que corresponden a los extractos obtenidos a partir de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” y *Ricinus communis* “higuerilla respectivamente no presentaron efecto inhibitor en el crecimiento de *Rizoctonia solani*
- *Trichoderma harzainum* es un excelente antagonista porque Crece y cubre completamente la colonia *Rizoctonia solani*.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Jaramillo S. Monografía sobre *Rhizoctonia solani*, Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Colombia – Medellín. 2003.
2. FAO. Revista agricultura 21. Tesoro enterrado: La papa. Disponible en la página Web: <http://www.fao.org/AG/esp/revista/0611sp1.htm>.2006.
3. Solórzano A., Uso adecuado de fungicidas protectores en programas para el combate de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa. I Congreso Nacional de Agricultura Conservacionista. San José Costa Rica. 2002.
4. José mostacero león, taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú, editorial normas legales S.A.2002 – Perú
5. Agrios G., Fitopatología. Primera edición. Editorial Limusa. 1995..Pp. 18-20, 317-323.
6. Andrade N., Castro I., Carrasco J.Principales enfermedades del Cultivo de la Papa en la Xa región. Curso – Taller de capacitación para pequeños agricultores de Los Muermos. Chile. 2004.
1. Steel y J. Torrie .Bioestadística.Mc Graw-Hill.Mexico. 1989