

# Efectos de Purines de Chipaca (*Bidens pilosa* L.) y de Microorganismos en la Incidencia y Severidad de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary en Papa Criolla (*Solanum phureja*) Cultivada en Tenjo (Cundinamarca, Colombia)

Effects of Chipaca (*Bidens pilosa* L.) Purins and Microorganisms in the Incidence and Severity of *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary in Potato (*Solanum phureja*) Cultivated in Tenjo (Cundinamarca, Colombia)

Tomás Enrique León Sicard<sup>1</sup>; Alejandro Coca Castro<sup>2</sup>;  
Wilmer Alexander Forigua Osorio<sup>3</sup> y Diana Edith Castellanos Suárez<sup>4</sup>

**Resumen.** En una finca ecológica del municipio de Tenjo (Cundinamarca-Colombia) se estudió el efecto de varios materiales preparados a partir de chipaca (*Bidens pilosa*) y de aislamientos microbianos, sobre la incidencia y severidad de *P. infestans* en un cultivo de papa criolla (*Solanum phureja*), utilizando un diseño completamente al azar (DCA) con submuestreo y ocho tratamientos: purín de flores; purín mezcla; actinomiceto AC 12 (*Streptomyces* sp.); mezcla de actinomicetos; aislamiento bacteriano (*Bacillus subtilis*); mezcla bacterias (*Bacillus subtilis* y *Burkholderia cepacia*); Hongo (*Geotrichum* sp.) y un control (agua destilada estéril). Los resultados mostraron rápida incidencia de la enfermedad, que fue evidente a los 36 días después de la siembra (dds) y alcanzó 100% de afectación a los 52 dds sin diferencias entre tratamientos. La severidad fue estadísticamente diferente únicamente en el tratamiento de "purín de flores", que se diferenció significativamente del tratamiento control entre los 56 y 70 dds (27,8% menos) lo que fortalece resultados de ensayos anteriores sobre su potencial como posible producto biocontrolador de la Gota. Resultados menores de severidad frente al control (no significativos) también se obtuvieron con los tratamientos "purín mezcla" y "mezcla de actinomicetos", entre los 60 y 87 dds.

**Palabras clave:** Control de enfermedades, agroecología, finca ecológica, aislamientos microbianos, purín de flores.

**Abstract.** In an organic farm of Tenjo (Cundinamarca, Colombia) the effect of various materials prepared from chipaca (*Bidens pilosa*) and microbial isolates, on the incidence and severity of *P. infestans* in potato (*Solanum phureja*) were studied using a completely randomized design (CRD) with subsampling and eight treatments: flowers slurry, mixed slurry; actinomycete AC 12 (*Streptomyces* sp.), mix actinomycetes; isolation bacterial (*Bacillus subtilis*); mixed bacteria (*Bacillus subtilis* and *Burkholderia cepacia*); fungus (*Geotrichum* sp.) and a control (sterile distilled water). The results showed rapid disease incidence, which was evident at 36 days after planting (dap) and reached 100% involvement at 52 dap, with no differences between treatments. The severity was statistically different only in the treatment of "purin of flowers", which differed significantly from the control treatment between 56 and 70 dap (27.8% less) which strengthens results of previous tests as a potential biocontrol product. Lower percentages of severity versus control (not significant) were also obtained with the treatments "slurry mixture" and "mixed actinomycetes", between 60 and 87 dap.

**Key words:** Diseases control, agroecology, organic farming system, microbial isolated, flowers purin.

El cultivo de papa es reconocido por sus impactos ambientales en el uso de agroquímicos y especialmente de fungicidas sintéticos para el control de *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, agente causal de la Gota o Tizón tardío, enfermedad que puede generar pérdidas elevadas del tubérculo. En Estados Unidos, por ejemplo, hace una década el costo económico anual causado por la aplicación de fungicidas y las pérdidas económicas en el rendimiento, fue estimada en más de 287 millones de dólares, y una cuarta parte de ese costo correspondió al uso de fungicidas (Guenther

*et al.*, 2001). Niederhauser (1995) afirmaba que para esa época el control químico de la Gota le costaba a los cultivadores del mundo 1,8 billones de dólares al año, cifra que para el año 2007 el CIP tasaba alrededor de US \$2,75 billones (Salazar *et al.*, 2009).

*P. infestans* (Mont) de Bary es un oomycete, cenocítico, que produce un esporangio elipsoide en forma de limón (longitud entre 9 y 36  $\mu\text{m}$  y ancho entre 19 y 22  $\mu\text{m}$ ). Las zoosporas (7-12 por esporangio) tienen dos flagelos y son usualmente uninucleadas. Estas

<sup>1</sup> Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia – Sede Bogotá - Instituto de Estudios Ambientales (IDEA). Calle 44 No. 45-67 Bloque B2 Unidad Camilo Torres, Bogotá, Colombia. <teleons@unal.edu.co>

<sup>2</sup> Asistente de Investigación 3. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Kilómetro 17 recta Cali-Palmira. Cali, Colombia. <acocac@unal.edu.co>

<sup>3</sup> Ingeniero Agrícola. Universidad Nacional de Colombia – Sede Bogotá - Facultad de Ingeniería. Carrera 30 No. 45-03, Bogotá, Colombia. <blesforiguao@hotmail.com>

<sup>4</sup> Microbióloga. Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá - Centro Internacional de Física - Laboratorio de Microbiología. Carrera 45 No. 26-85, Bogotá, Colombia. <decastellanos@unal.edu.co>

Recibido: Julio 04 de 2012; aceptado: Mayo 27 de 2013.

zoosporas pueden ingresar directamente por los estomas de las hojas o mediante la formación de apresorios, por los cuales la hifa penetra directamente a través de la cutícula (Barquero *et al.*, 2005; Grünwald y Flier, 2005).

Temperaturas entre 3 y 26 °C favorecen el desarrollo óptimo de los esporangios, entre 12 a 15 °C son óptimas para el desarrollo y germinación de las zoosporas, y entre 24 y 25 °C permiten el crecimiento de los tubos germinales. Por esta razón las noches frías y con altos porcentajes de humedad relativa del aire, favorecen la presencia de la enfermedad (León *et al.*, 2003), que afecta hojas, tallos y ocasionalmente tubérculos. Sus primeros síntomas consisten en pequeñas manchas verdes, claras u oscuras, que se convierten en lesiones pardas o negras según la humedad del ambiente (Zapata, 1996).

Para su control, en Colombia generalmente se utilizan entre 12 a 18 aplicaciones de agroquímicos por ciclo de cultivo, situación que significa un gasto anual en el ámbito nacional cercano a los cien mil millones de pesos (Moreno, 1996). Asimismo, León (2007) indica que los plaguicidas (fungicidas, herbicidas, insecticidas, etc.) que utilizan los agricultores de papa de la Sabana de Bogotá con áreas de cultivo pequeñas, pueden significar porcentajes cercanos al 31,3% de los costos de producción y en el caso de agricultores con áreas de cultivo grandes hasta el 27,4% por hectárea año<sup>-1</sup>.

De otra parte, a pesar de que los fungicidas en general presentan baja toxicidad aguda, su uso intensivo y exposición por parte de los aplicadores, pueden ocasionar intoxicaciones crónicas cuyos síntomas más frecuentes son dermatitis, faringitis, bronquitis y conjuntivitis (Pardo y Barreto, 1986).

Muchas de las problemáticas citadas, han sido abordadas desde la agricultura ecológica a través del manejo integrado del agroecosistema (MIA) para el control de plagas y enfermedades. Este enfoque, a pesar de contar con varios años desde su formalización en la práctica y en la teoría agraria (Altieri, 1985), requiere todavía ajustarse en las condiciones de campo de muchos agricultores, entre ellos los cultivadores de papa del trópico alto.

En agricultura ecológica de papa, son prácticas claves la rotación de cultivos, la adición de abonos verdes y la no aplicación de plaguicidas (Johnson y Sideman,

2006). La incidencia de insectos fitófagos sobre plantas de papa que crecen en suelos manejados ecológicamente, fertilizados con abono y compost es menor que en plantas que crecen en suelos con manejo convencional. Esto lo explica la hipótesis del balance mineral que sugiere que la materia orgánica y la actividad microbiana en suelos manejados ecológicamente aumentan su capacidad de amortiguación para mantener el balance de nutrientes en plantas (Alyokhin *et al.*, 2005).

Desde mediados del siglo XIX el caldo bordelés (sulfato de cobre/hidróxido de calcio) se ha usado para el control de patógenos en los viñedos en Francia, así como para el control de *P. infestans* en papa, debido a su efectividad, a que no induce resistencia por parte del patógeno y porque es relativamente económico si se compara con los fungicidas químicos comerciales (Dixon, 2004). No obstante, varios investigadores afirman que su aplicación continua y en dosis altas podría acumular cobre en las capas superiores del suelo, afectar la actividad microbiana edáfica o producir efectos fitotóxicos en las plantas (Restrepo, 2000; Brun *et al.*, 2001; Fernández-Northcote, 2002; Jacobson *et al.*, 2005).

Los productos alternativos de control basados en microorganismos antagonistas (*Pseudomonas putida*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp., *Streptomyces* sp.), sustancias químicas para inducir resistencia sistémica o extractos producidos por microorganismos en la rizosfera de la planta, han demostrado también buena actividad contra el causante de la Gota de la papa (Zarb *et al.*, 2002; Larkin y Griffin, 2006). En adición, la información sobre el uso de productos naturales derivados de plantas para el control de Gota es limitada y la mayoría de estudios al respecto fueron realizados solamente en condiciones de laboratorio (Soylu *et al.*, 2006).

En Colombia, por su parte, la experiencia de trabajos de agricultura ecológica en papa es relativamente poca, tanto a nivel de los productores, como del estamento científico. En el primer caso se destacan los trabajos de CENSAT (Centro Nacional de Estudios en Salud, Ambiente y Trabajo), que impulsa la recuperación de germoplasma de papa en Málaga (Santander) (Censat, 2003) y otros trabajos adicionales para controlar *P. infestans* que se han dado de manera empírica en cultivos de tomate en la Sabana de Bogotá, en donde se han realizado

aspersiones foliares de *Bidens pilosa* con relativo éxito (Pérez, *com. per.*)<sup>1</sup>

En el segundo caso, la literatura reporta los trabajos de León (2003) y León *et al.*, (2003) sobre inducción de resistencia sistémica con caldos microbianos en sistemas ecológicos de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Tenjo, en donde los autores mostraron evidencias iniciales de resistencia a la Gota en laboratorio y campo como consecuencia del uso del purín de chipaca (*Bidens pilosa* L.). En sus conclusiones indican que el extracto fermentado de chipaca contiene géneros cultivables de microorganismos como *Geotrichum* sp. y *Pseudomonas* sp. y que, en condiciones de laboratorio, presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento del oomicete *P. infestans*, debido probablemente a una posible competencia por espacio, generado por el rápido crecimiento de estos microorganismos respecto al fitopatógeno. En campo, el efecto inhibitorio de *B. pilosa* sobre *P. infestans* se manifestó temporalmente en los momentos siguientes a su aplicación.

En otro ensayo en invernadero, con la utilización de caldos microbianos, los mismos autores obtuvieron porcentajes de control de la enfermedad superior al testigo. Tanto el caldo microbiano de rizosfera de papa (CMRF) como el que se preparó a partir de raíces de plantas de borraja (*Borago officinalis*), ortiga (*Urtica dioica* L.) y limonaria (*Cymbopogon citratus*) y otro denominado Caldo de Inductores (cepas seleccionadas de *Pseudomonas fluorescens*), mostraron niveles de control significativos.

Por su parte, Fonseca *et al.* (2011) estudiaron *in vitro* 25 aislamientos de purines de chipaca obtenidos de flores, raíces, hojas-tallos y su mezcla sobre el crecimiento de *P. infestans*, obteniendo porcentajes de inhibición de *P. infestans* en ocho de ellos, con porcentajes variables entre 33,3% y 77,8%. En ensayos complementarios los autores realizaron pruebas de inhibición del fitopatógeno con extractos crudos de chipaca con resultados negativos y análisis fitoquímicos para alcaloides (positivos solo para el extracto de flores), triterpenos, esteroides, flavonoides y taninos (positivos para todos los extractos) y antraquinonas, lactonas terpénicas, cumarinas, cardiotónicos y saponinas (León, *et al.*, 2011).

Tomando como base los resultados de Fonseca *et al.*, (*op. cit*) y León *et al.*, (*op. cit*) en esta investigación se propuso evaluar el efecto inhibitorio en campo de dos purines (preparados a partir de flores y mezcla de tallos, hojas, raíces y flores) de *Bidens pilosa* y de otros materiales que incluyeron cultivos individuales o combinados de algunas cepas de actinomicetos y de bacterias que habían dado resultados positivos en la fase previa de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación y material vegetal del ensayo.** El ensayo se realizó en la finca ecológica Gabeno (Tenjo, Cundinamarca, Colombia), ubicada a 2.600 msnm, (4°50'15" Latitud Norte y 74°08'57" Longitud Oeste), con temperatura promedio de 20 °C, 900 mm de precipitación anual y suelos Typic Melanudands. Posterior al acondicionamiento del suelo con arado rotativo (rotovator), se sembró papa criolla (*S. phureja*) con 41.666 sitios de siembra-ha<sup>-1</sup> configurados en 24 parcelas experimentales de 1,8 x 6 m cada una (lote de 340 m<sup>2</sup>). Dentro de cada parcela se conformaron tres surcos a 0,8 m, dejando 0,1 m de área libre en los bordes para facilitar el aporque, realizado a los 34 y 49 días después de siembra (dds). Con el fin de aumentar las probabilidades de severidad de la Gota, además de manejar alta densidad de siembra, no se aplicaron fertilizantes, abonos orgánicos ni productos fitosanitarios diferentes a los usados como tratamientos.

**Descripción de los tratamientos.** Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con submuestreo y ocho tratamientos: purín flores; purín mezcla; actinomiceto AC12 (*Streptomyces* sp.); mezcla actinomicetos (3 cepas diferentes AC12, AC07 y AC05, correspondientes al género *Streptomyces* sp.); aislamiento bacteriano (*B. subtilis*); mezcla bacterias (*B. subtilis* y *Burkholderia cepacia*); *Geotrichum* sp. y control (agua destilada estéril) (Tabla 1), con tres unidades experimentales (UE) o parcelas, cada una de las cuales contenía tres surcos de 21 plantas. De cada surco central se seleccionaron aleatoriamente 10 plantas para evitar efectos de borde y estas se tomaron como unidades permanentes de observación hasta el final del ensayo.

**Preparación de los purines.** Se pesaron separadamente 500 g de flores, raíces, tallos y hojas de chipaca (*B. pilosa* L.) y cada uno se mezcló con 1.500 mL de agua destilada estéril y 2 g de levadura. Estas mezclas se vertieron en recipientes plásticos

<sup>1</sup> Miguel Ángel Pérez. Agrólogo, M.Sc. en Agroecología. Consultor Megaproyecto Cámara de Comercio de Bogotá.

limpios, cubriendo cada uno con un lienzo para evitar su contaminación con otras sustancias u organismos (Ramírez, 1996). Estos se dejaron en un lugar fresco por 30 días bajo proceso de fermentación, realizándose posteriormente una filtración para separar el material vegetal del extracto obtenido.

**Preparación y condiciones de aplicación de los inóculos de microorganismos.** A partir de los aislamientos que presentaron porcentajes de inhibición por encima del 70% contra *P. infestans* en placas de medio de cultivo con agar papa dextrosa (PDA por sus siglas en inglés) en ensayos previos de los presentes

**Tabla 1.** Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento para control biológico de gota en papa criolla *Solanum phureja*: preparación de los tratamientos.

Tratamiento	Denominación	Composición
1	Purín Flores	1,5 kg de flores de Chipaca por 3 L de agua
2	Purín Mezcla	1,5 Kg de raíces, tallos y hojas por 3 L de agua
3	Actinomiceto AC12	<i>Streptomyces</i> sp. ( $1,30 \times 10^7$ células mL <sup>-1</sup> )
4	Mezcla Actinomicetos	Cuatro cepas diferentes de <i>Streptomyces</i> sp. con una concentración final de la mezcla de $9,1 \times 10^6$ células mL <sup>-1</sup>
5	Bacteria	<i>Bacillus subtilis</i> ( $10^{10}$ células mL <sup>-1</sup> )
6	Mezcla Bacterias	<i>Bacillus subtilis</i> y <i>Burkholderia cepacia</i> ( $10^{10}$ células mL <sup>-1</sup> de todo el inóculo)
7	<i>Geotrichum</i> sp	$10^6$ células mL <sup>-1</sup>
8	Control	-

autores (Fonseca *et al.*, *op.cit.*), se seleccionaron cuatro cepas de actinomicetos correspondientes al género *Streptomyces* y dos cepas bacterianas de *B. subtilis* y *B. cepacia* de la colonia bacteriana 471-2. Las suspensiones bacterianas microbianas fueron preparadas en agua destilada estéril, estableciendo la concentración de células viables ( $10^7$  y  $10^{10}$  células mL<sup>-1</sup> para actinomicetos y bacterias, respectivamente) con el método de siembra en superficie y recuento en placa para células viables (Olsen y Bakken, 1987). Del mismo trabajo mencionado se obtuvo la suspensión del hongo *Geotrichum* sp. que se recogió en agua destilada estéril a partir de placas de agar papa dextrosa (PDA) con 72 horas de crecimiento. Con la ayuda de perlas de vidrio estéril y un rastrillo de vidrio, se removió la superficie del micelio del hongo para liberar las esporas y la suspensión se recogió en un tubo de ensayo. Esta suspensión se homogenizó, se tomó una alícuota de 20 µL, se colocó en una cámara hematocitométrica de Neubauer y se estableció el conteo de esporas en el microscopio óptico (40X) (Nurka *et al.*, 2007).

Posterior a la preparación de los inóculos, se inició la producción masiva de cada uno de los microorganismos, mediante su disposición en cultivos líquidos específicos para su crecimiento óptimo, con un volumen final de 5 L; los caldos con los inóculos

se mantuvieron en agitación constante (120 rpm) con temperatura de 25 °C durante 5 días para los actinomicetos y *Geotrichum* sp. y 48 horas para las bacterias. Finalizado este tiempo de fermentación, se mezclaron los inóculos en la misma proporción para obtener, por separado, un solo inóculo de actinomicetos, *Geotrichum* sp. y las bacterias, los cuales previamente pasaron por pruebas de antagonismo entre ellas, para detectar posibles efectos inhibitorios en el inóculo. Para ello se utilizó un método directo, descrito por Földes *et al.* (2000).

**Aplicación manual de los tratamientos.** Se calibró una aplicación de 3 L de producto por tratamiento, aplicando una dosis de 15,8 mL de producto por planta. Como coadyuvante se utilizaron 30 mL de clara de huevo por litro de producto, de acuerdo con la recomendación de César Cabra<sup>2</sup>, con la finalidad de fijar el producto en la hoja. Las aplicaciones se realizaron a los 35, 42, 48, 56, 63, 70 y 77 dds en las primeras horas de la mañana o últimas horas de la tarde.

**Variables evaluadas y análisis de los datos.** Se cuantificó la incidencia (No. de plantas atacadas/No. de plantas totales X 100) y severidad (porcentaje de área foliar afectada) de la enfermedad en el surco central de cada parcela por medio de la escala relativa (Tabla 2) propuesta por el Centro Internacional

de la Papa (CIP, 1987). Sobre las mismas plantas evaluadas para severidad, se evaluó la incidencia en tallo, entendida como tallos atacados/tallos totales planta. Se realizaron 12 evaluaciones a los 36, 39, 42, 45, 49, 52, 56, 60, 63, 70, 77 y 87 dds.

Los datos de incidencia y severidad a nivel de planta y surco central se sometieron a un análisis de varianza, previa transformación arcoseno de los datos para homogeneizar las varianzas y a una prueba de rango múltiple de Duncan ( $P \leq 0,05$ ), utilizando como software estadístico, SAS versión 9.1®.

Por otra parte, se determinó el efecto de los tratamientos en la producción del tubérculo, realizando la cosecha de las parcelas a los 109 dds. De esta manera, para el análisis estadístico se tuvo en cuenta un DCA teniendo tres repeticiones por tratamiento representadas por el valor de

producción del surco central de cada parcela. Las condiciones climáticas del ensayo (temperatura y humedad relativa diarias) fueron registradas a partir de los 21 dds mediante un termohigrómetro digital MODEL 303-C instalado en la parte central del lote experimental.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de incidencia y severidad del ataque de *P. infestans* se muestran en la Tabla 3. A partir de los 36 dds, comenzaron a ser evidentes los síntomas de Gota en todas las plantas sembradas, siendo altamente favorecida por las condiciones climáticas entre los 23 y 91 dds, (temperaturas promedios alrededor de 18 °C y humedad relativa promedio de 69%) (Figura 1). Durante este periodo se tuvieron días relativamente nublados, con lloviznas y una posterior aparición de sol, condiciones que optimizaron el desarrollo y propagación del patógeno.

**Tabla 2.** Escala para evaluar severidad por *Phytophthora infestans* en un cultivo de papa criolla (*Solanum phureja*) tratado con biopreparados.

Valores escala	Gota (%)		Síntomas
	Media	Límites	
1	0		No se observa presencia de Gota.
3	10	5 - < 15	Las plantas parecen sanas, pero las lesiones son fácilmente vistas al observar de cerca. Máxima área foliar afectada por lesiones o destruida corresponde a no más de 20 foliolos.
4	25	15 - < 35	La Gota es fácilmente vista en la mayoría de la(s) planta(s). Alrededor del 25% del follaje está cubierto de lesiones o destruido.
5	50	35 - < 65	La parcela luce verde, pero todas las plantas están afectadas. Las hojas inferiores están muertas. Alrededor del 50% del área foliar destruido.
6	75	65 - < 85	La parcela luce verde con manchas pardas. Alrededor del 75% de cada planta está afectado. Las hojas de la mitad inferior de las plantas están destruidas.
7	90	85 - < 95	La parcela no está predominantemente verde ni parda. Solo las hojas superiores están verdes. Muchos tallos tienen lesiones extensas.
8	97,5	95 - <100	La parcela se ve parda. Unas cuantas hojas superiores aún presentan algunas áreas verdes. La mayoría de los tallos están lesionados o muertos.
9	100		Todas las hojas y los tallos están muertos.

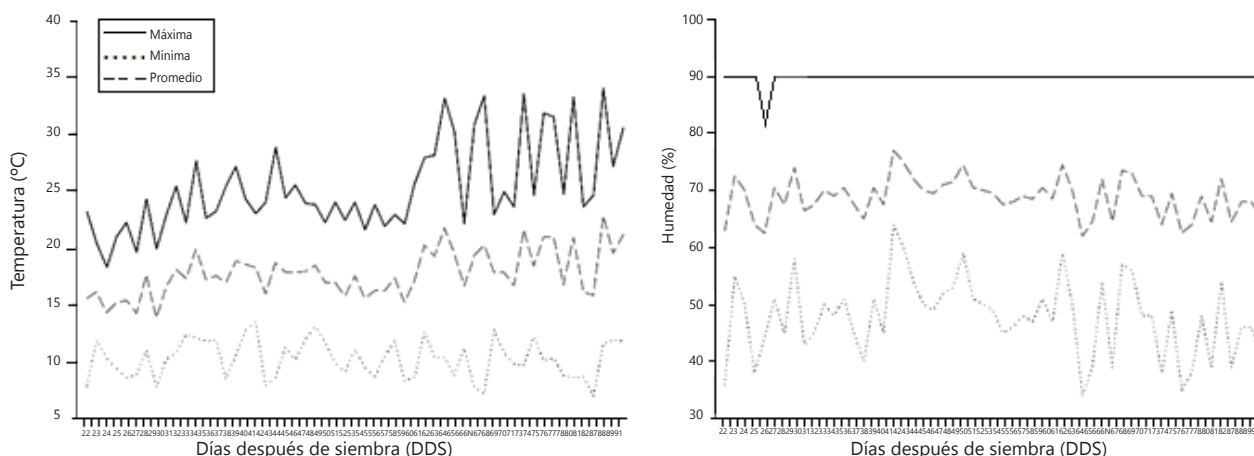
Adaptada del CIP (1987).

**Incidencia.** La incidencia de Gota en hojas alcanzó el 100% en todos los tratamientos a los 52 dds (Figura 2A; Tabla 3), siendo el tratamiento control el último en completar este valor. El tratamiento "bacteria" presentó menor incidencia del patógeno que

únicamente fue estadísticamente diferente respecto al control a los 42 dds en hojas (58,7% *versus* 85,5%). Los otros tratamientos presentaron comportamientos similares al testigo y a los 42 dds no se diferenciaron estadísticamente del mismo.

<sup>2</sup> Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional de Colombia. Correo electrónico: cesarcabra@yahoo.com.

Por otra parte, la incidencia de Gota en tallos también alcanzó el 100% en todos los tratamientos



**Figura 1.** Comportamiento de la temperatura y la humedad (máxima, mínima y promedio) en las parcelas cultivadas con papa criolla (*Solanum phureja*), localizadas en la finca ecológica Gabeno (Tenjo, Cundinamarca, Colombia).

**Tabla 3.** Porcentajes de severidad e incidencia a nivel de hojas y tallos en plantas de papa criolla (*Solanum phureja*) sometidas a diferentes aplicaciones de biopreparados para disminuir ataque de *Phytophthora infestans*.

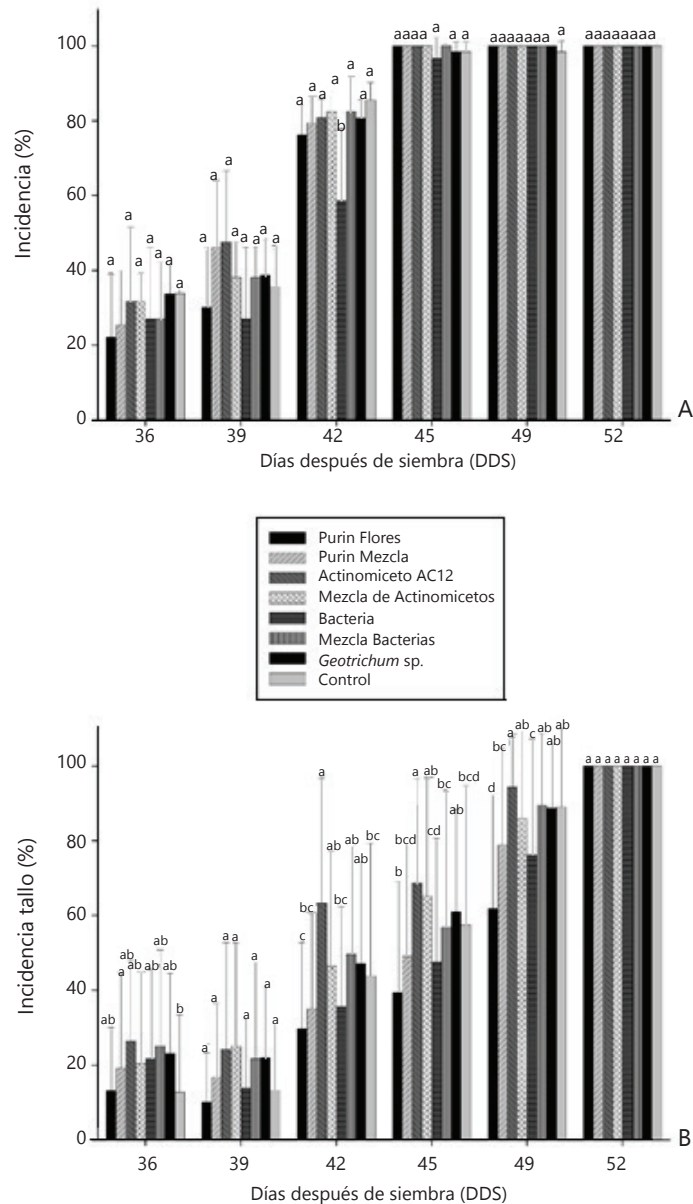
Variable	DDS	Tratamientos								Promedio
		Purin Flores	Purin Mezcla	AC12	Mezcla Actinomicetos	Bacteria	Mezcla Bacterias	<i>Geotrichum</i> sp.	Control	
Incidencia hojas	36	22,2 a	25,4 a	31,7 a	31,7 a	27 a	27 a	33,8 a	33,9 a	29,1
	39	30,2 a	46 a	47,6 a	38,1 a	27 a	38,1 a	38,7 a	35,6 a	37,7
	42	76,2 a	79,4 a	81 a	82,5 a	58,7 b	82,5 a	80,7 a	85,5 a	78,3
	45	100 a	100 a	100 a	100 a	96,8 a	100 a	98,4 a	98,4 a	99,2
	49	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	98,4 a	99,8
	52	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100
<b>Promedio</b>		71,4	75,1	76,7	75,4	68,3	74,6	75,3	75,3	74
Incidencia tallo	36	13,2 ab	19,2 a	26,4 ab	20,4 ab	21,9 ab	25,1 ab	23,1 ab	12,8 a	20,3
	39	10,1 a	16,8 a	24,2 a	25,2 a	13,8 a	21,8 a	22 a	13,2 a	18,4
	42	29,7 c	35 bc	63,3 a	46,5 ab	35,6 bc	49,7 ab	47,2 ab	43,9 bc	43,9
	45	39,4 d	49,1 bcd	87,6 a	65,2 ab	47,5 cd	56,9 bc	61,1 ab	57,4 bcd	58
	49	61,9 d	78,8 bc	94,4 a	85,9 ab	76,2 c	89,4 ab	88,7 ab	89 ab	83
	52	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100
<b>Promedio</b>		42,4	49,8	66	57,2	49,2	57,1	57	52,7	53,9
Severidad	36	1,4 a	2,2 a	2,8 a	4,9 a	1,7 a	2,5 a	2,2 a	1,9 a	2,5
	39	1,4 a	2,4 a	2,4 a	5,3 a	1,6 a	2,7 a	2,4 a	2 a	2,5
	42	3,4 a	7,1 a	5,8 a	7,2 a	3,6 a	4,3 a	4,1 a	4,6 a	5
	45	4,7 a	8,2 a	10,9 a	8,9 a	5,6 a	6,5 a	5,8 a	5,9 a	7,1
	49	11,4 a	22,2 a	28,4 a	19,4 a	25,9 a	25,2 a	16,9 a	22,7 a	21,5
	52	21,7 a	28,9 a	38,1 a	32,4 a	36,2 a	32,8 a	29,4 a	38,7 a	32,3
	56	28,6 a	38,5 b	48,5 a	41 b	46,2 a	43,4 b	41,4 b	47,3 a	41,9
	60	28,5 b	36,5 ab	47,8 a	39,3 ab	44,7 ab	43 ab	39,1 ab	46 a	40,6
	63	32,8 b	39,6 ab	58,3 a	41 ab	56 a	52,2 a	48,5 ab	54,3 a	47,9
	70	36,8 a	45,7 ab	62,2 a	46,7 ab	60,2 a	56,6 a	55,6 a	58,5 a	52,8
	77	44 b	46,3 ab	67,5 a	48,5 ab	67,9 a	62,6 ab	59,7 ab	57,2 ab	56,7
87	49 b	54,1 ab	69,5 ab	53 ab	73,7 a	66,7 ab	65,8 ab	62,7 ab	61,8	
<b>Promedio</b>		22	27,6	36,9	29	35,3	33,2	30,9	33,5	31

Letras distintas en cada fila indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Duncan de comparación de medias ( $\alpha = 0,05$ ).

a los 52 dds (Figura 2B; Tabla 3) y mostró, al igual que la incidencia en plantas, una tendencia a menor velocidad de colonización del patógeno en los tratamientos "bacteria", "purín mezcla" y "purín flores". Estos dos últimos fueron los de menor valor de incidencia en tallo y estadísticamente se diferenciaron del control a los 49 dds (76,2% y 61,9% versus 89%, respectivamente). En contraste, el tratamiento "actinomiceto AC12" presentó valor

alto de incidencia en tallos respecto a los otros tratamientos, siendo estadísticamente su valor diferente al control entre los 42 y 45 dds (63,3% y 87,6% versus 43,9% y 57,4%).

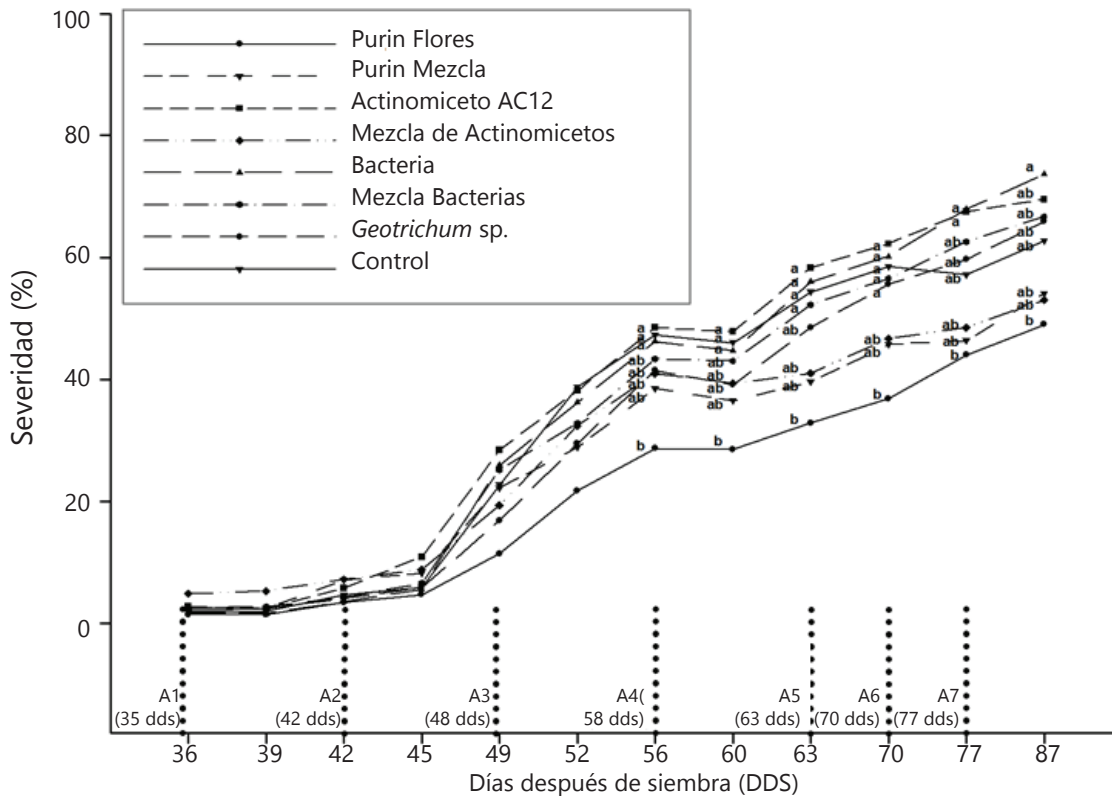
**Severidad.** A partir de los 45 dds se observa un crecimiento lineal de la severidad del ataque de *P. infestans*, pronunciándose después de la labor cultural de aporque, realizada a los 49 dds. Igualmente, se



**Figura 2.** Comportamiento de la variable incidencia respecto a hojas (A) y tallos (B) en plantas de papa criolla (*Solanum phureja*) del surco central por tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan de comparación de medias ( $\alpha = 0,05$ ).

observó, de manera general en todos los tratamientos, que la severidad se incrementó aproximadamente 25% entre los 45 y 56 dds, a una razón incremental de 2,3%·día<sup>-1</sup>. Después de los 60 días la razón de crecimiento fue aproximadamente de 0,8%·día<sup>-1</sup> (Figura 3).

Por otra parte, aunque se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos a partir de los 56 dds, únicamente el tratamiento de "purín flores" se diferenció significativamente del tratamiento control entre los 56 y 70 dds, lo que indica y fortalece los resultados de



**Figura 3.** Severidad por tratamientos en papa criolla (*Solanum phureja*) atacadas por *Phytophthora infestans* (Tenjo – Cundinamarca, Colombia, 2010b). Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas ( $\alpha = 0,05$ ). Líneas punteadas sobre el eje X indican momentos de aplicación de los tratamientos.

ensayos anteriores sobre su potencial como posible producto biocontrolador de la Gota. Es posible que este efecto se relacione, bien sea con el pH básico detectado en el purín de flores (Fonseca *et al.*, *op. cit.*) o con metabolitos secundarios tipo alcaloide presentes en su composición, algunos de los cuales (alcaloides pirrolizídicos) han presentado actividad contra hongos y bacterias fitopatógenas (Jain y Sharma, 1987; Halama y Van Haluwin, 2004) o proveen condiciones favorables para el establecimiento e incremento de microorganismos antagonistas en plantas hospedantes (Scheuerell y Mahaffee, 2002).

De igual forma, los tratamientos "purín mezcla" y "mezcla actinomicetos", que no presentaron diferencias significativas respecto al control, si

mostraron tendencia a menor valor de severidad, en particular entre los 60 y 87 dds. Es importante resaltar, que los tratamientos "purín flores", "mezcla actinomicetos" y "purín mezcla" registraron 27,8; 18,2 y 15,9% menor severidad respecto al control (Figura 3; Tabla 4) en la última fecha de evaluación (87 dds), siendo, en especial el primer valor, promisorio y útil como plan de control alternativo de esta enfermedad. Los anteriores resultados sugieren el potencial de estos materiales para reducir el ataque de Gota en campo (Stephan *et al.*, 2005; Mizubuti *et al.*, 2000), aunque se requieren estudios complementarios para asegurar su disponibilidad oportuna y en cantidades suficientes, definir los coadyuvantes apropiados y establecer los efectos climáticos en su efectividad, entre otras cosas.



En contraste y a pesar de registrar menores valores de incidencia, los tratamientos "bacteria" y "actinomiceto AC12", presentaron valores superiores de severidad

respecto al control. Por su parte, los tratamientos "Geotrichum sp." y "mezcla de bacterias" evidenciaron valores de severidad cercanos al control pero no

**Tabla 4.** Aumento/disminución de la severidad de los tratamientos evaluados respecto al control en papa criolla (*Solanum phureja*) de *Phytophthora infestans* a los 87 dds.

Tratamiento	Cambio severidad (%)
Purín flores	- 27,8
Mezcla actinomicetos	- 18,2
Purín mezcla	- 15,9
Control	0
<i>Geotrichum</i> sp.	+ 4,8
Mezcla bacterias	+ 6,0
Actinomiceto AC12	+ 9,8
Bacteria	+14,9

se diferenciaron estadísticamente del mismo. No obstante, como lo establecen Mizubuti *et al.* (2000), aunque estos preparados de microorganismos o plantas pueden ser menos tóxicos respecto a los agroquímicos para la comunidad microbiana del agroecosistema, se necesitan más estudios sobre su biología, ecología y mecanismos de inhibición de patógenos para poder evaluar su papel potencial en el control de la Gota. Igualmente, cabe señalar que la efectividad de los tratamientos (componentes activos y/o microorganismos) puede estar más o menos influenciada por la temperatura ambiente, luz ultravioleta, pH sobre las partes de la plantas tratada, lluvia y otros factores ambientales (Schmutterer, 1990).

**Producción.** Aunque no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, se observa una tendencia del tratamiento "purín flores" a presentar mayor producción respecto al tratamiento control (Figura 4). Por el contrario, el "purín mezcla", que tuvo menor severidad respecto al tratamiento control, presentó menor producción, incluso en comparación con otros tratamientos que presentaron mayor severidad en el ensayo. Por su parte, la "mezcla actinomicetos" exhibió tendencia similar al tratamiento control (Figura 4).

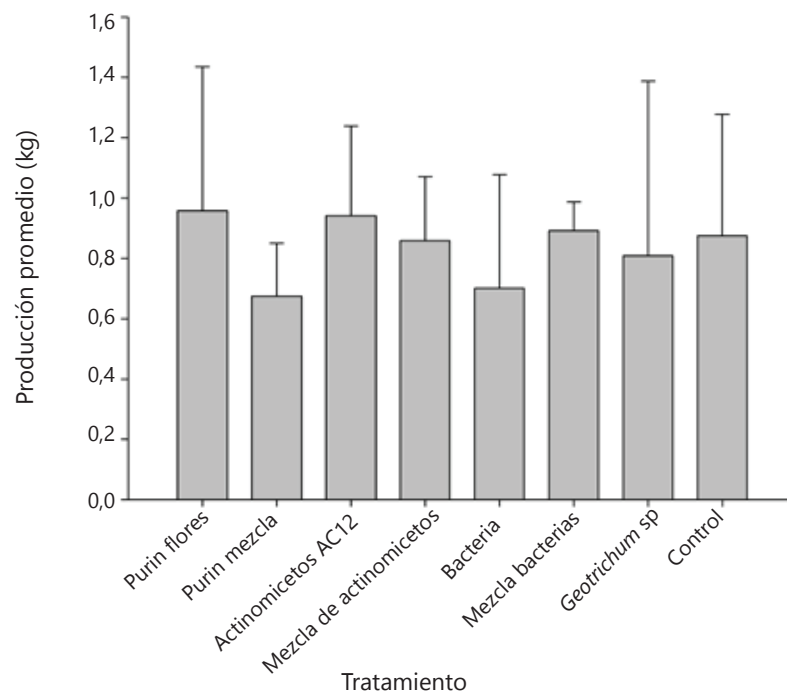
Respecto a la tendencia de los tratamientos "actinomiceto AC12" y "bacterias" a presentar mayor producción, es posible que su explicación resida en otros factores que no están relacionados con

al área foliar de la planta la cual fue mayormente afectada en estos tratamientos respecto al testigo. Moller *et al.* (2007) encontraron que la pérdida foliar debido a infestación por Gota generalmente no alcanza la limitación de niveles de rendimiento hasta después de que el crecimiento del tubérculo se haya naturalmente desacelerado.

Por último, es importante aclarar que si los resultados obtenidos se expresan en rendimiento, estos se encontrarían por debajo del promedio nacional, < 2 t·ha<sup>-1</sup> respecto al promedio de 12 t·ha<sup>-1</sup> (Rivera *et al.*, 2003). No obstante, estos resultados se produjeron en plantas provenientes de semilla de aparente bajo vigor y no recibieron fertilización, dos condiciones básicas para estar dentro del promedio nacional.

## CONCLUSIONES

El tratamiento "purín flores" fue el que controló en mayor medida la severidad de la Gota en la fase experimental en campo, diferenciándose significativamente del control entre los 56-70 dds. Lo anterior, ratifica los indicios que había mostrado este tratamiento en ensayos previos en invernadero y ensayos *in vitro*. Por su parte, los tratamientos "purín mezcla" y "mezcla actinomicetos" presentaron el segundo y tercer mejor control de la severidad de la Gota. Sin embargo, no mostraron diferencias significativas con el control en el transcurso del ensayo.



**Figura 4.** Comportamiento de la variable producción en plantas de papa criolla (*Solanum phureja*) tratadas con biopreparados para el control de *Phytophthora infestans*. Valores, expresados en kilogramos, corresponden al promedio de cosecha de 21 plantas/surco central.

Los tratamientos no mostraron efectos en la producción al no presentarse diferencias significativas respecto al control.

En investigaciones posteriores se requiere definir el modo y los mecanismos de acción de los tratamientos en campo (curativo o preventivo), determinar el coadyuvante ideal que permita aumentar el éxito de acción y fijación del producto sobre la hoja y reforzar los tratamientos promisorios con los microorganismos antagonistas de mayor éxito de inhibición *in situ* contra *P. infestans* con el fin de aumentar la acción y duración de los componentes activos y/o antagonistas con la interacción planta-patógeno.

## BIBLIOGRAFÍA

Altieri, M.A. 1985. Agroecología. Bases científicas de la agricultura alternativa. Ediciones CETAL, Valparaíso, Chile. 184 p.

Alyokhin, A., G. Porter, E. Groden and F. Drummond. 2005. Colorado potato beetle response to soil amendments: A case in support of the mineral

balance hypothesis? Agriculture, Ecosystems and Environment 109(3-4): 234-244.

Barquero, M., A. Brenes y L. Gómez. 2005. Complejidad fisiológica de *Phytophthora infestans* en Costa Rica. Agronomía Costarricense 29(3): 21-29.

Brun, L.A. J. Maillet, P. Hinsinger and M. Pépin. 2001. Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. Environmental Pollution 111(2): 293-302.

CENSAT. 2003. Agroecología. Verde la tierra. Cuadernos. Centro Nacional de Estudios en Salud, Ambiente y Trabajo (CENSAT) - Agua Viva, Bogotá, Colombia. 32 p.

Centro Internacional de la Papa (CIP). 1987. Clave de campo para evaluar el Tizón Tardío de la papa. pp. 21. En: Henfling, J.W. El Tizón Tardío de la papa *Phytophthora infestans*. Boletín de Información Técnica No. 4. Centro Internacional de la Papa (CIP). Trillos, Lima. 25 p.

Dixon, B. 2004. The last word pushing bordeaux mixture. The Lancet Infectious Diseases 4(9): 535-594.

- Fernández-Northcote, E. 2002. Fungicidas: Historia, presente y futuro de los fungicidas utilizados para el control del Tizón. pp. 67–76. En: Fernández-Northcote E. (ed.), Memorias del Taller Internacional Complementando la Resistencia al Tizón (*Phytophthora infestans*) en los Andes. Cochabamba, Bolivia. CIP Iniciativa Global para el Tizon Tardío (GILB), Lima, Perú. 201 p.
- Fonseca, Y., D. Castellanos y T. León-Sicard. 2011. Efecto antagónico *in vitro* de actinomicetos aislados de purines de chipaca (*Bidens pilosa* L.) frente a *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín 64(2): 6111-6119.
- Földes, T., I. Bánhegyi, Z. Herpai, L. Varga and J. Szigeti. 2000. Isolation of *Bacillus* strains from the rhizosphere of cereals and *in vitro* screening for antagonism against phytopathogenic, food-borne pathogenic and spoilage micro-organisms. Journal of Applied Microbiology 89(5): 840-846.
- Grünwald, N. and W. Flier. 2005. The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. Annual Review of Phytopathology 43: 171–190.
- Guentherer, J. Michael, K. and P. Nolte. 2001. The economic impact of potato late blight on US growers. Potato Research 44: 121-125.
- Halama, P. and C. Van Haluwin. 2004. Antifungal activity of lichen extracts and lichenic acids. Biocontrol 49(1): 95-107.
- Jacobson, A.R., S. Dousset, N. Guichard, P. Baveye and F. Andreux. 2005. Diuron mobility through vineyard soils contaminated with copper. Environmental Pollution 138(2): 250-259.
- Jain, S.C. and R. Sharma. 1987. Antimicrobial activity of pirrolizine alkaloids from *Heliotropum ellipticum*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 35(8): 3487-3489.
- Johnson, S.B. and E. Sideman. 2006. Potato facts producing potatoes organically in Maine. Bulletin No. 2419. In: The University of Maine, <http://www.umaine.edu/umext/potatoprogram/Fact%20Sheets/organic%20potatoes.pdf>; 6 p.; consulta: julio 2010.
- Larkin, R.P. and T.S. Griffin. 2006. Control of soilborne potato diseases using *Brassica* green manures. Crop Protection 26(7): 1067-1077.
- León, S.T. 2003. Resistencia sistémica inducida con caldos microbianos de rizosfera para control de Gota (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) en agroecosistemas de papa. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid, 256 p.
- León, S.T. 2007. Medio ambiente, tecnología y modelos de agricultura en Colombia. Hombre y Arcilla. Universidad Nacional de Colombia – Instituto de Estudios Ambientales. ECOE Ediciones, Bogotá. 310 p.
- León, S.T., C. Sánchez, M. Fajardo, C. Ramírez, D. Castellanos y M. Guardiola. 2003. Sanidad vegetal e indicadores bioquímicos de resistencia sistémica a la Gota en sistemas de agricultura ecológica y convencional. Acta Agronómica 51(3-4): 103 –111.
- León, S.T., D. Castellanos, W. Forigua, A. Coca, J. Corredor, L. Díaz, A. Enríquez, Y. Fonseca y A. Rubiano. 2011. Evaluación del efecto inhibitor de diferentes tipos de purines y extractos crudos de chipaca (*Biden pilosa*) sobre el crecimiento de *P. infestans* en placa y plantas de papa criolla (*Solanum phureja*). Informe técnico final del Proyecto 159-2008S4340-3495. Universidad Nacional de Colombia – Instituto de Estudios Ambientales - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Bogotá. 148 p.
- Mizubuti, E., D.E. Aylor and W.E Fry. 2000. Survival of *Phytophthora infestans* sporangia exposed to solar radiation. Phytopathology 90(1): 78-84.
- Möller, K., J. Habermeyer, V. Zinkernagel and H.J. Reents. 2007. Impact and interaction of nitrogen and *Phytophthora infestans* as yield-limiting and yield-reducing factors in organic potato (*Solanum tuberosum* L.) crops. Potato Research 49: 281-301.
- Moreno, M.J. 1996. Problemática del cultivo de la papa en Cundinamarca y Boyacá. pp. 93-102. En: Papas colombianas con el mejor entorno ambiental. Comunicaciones y Asociados Ltda, UNIPAPA-ICA-CORPOICA, 272 p.
- Niederhauser, J. 1995. Proyecto internacional cooperativo en Tizón Tardío de la papa (PICIPAPA). Phytopathology News 29(5): 86-87.
- Niurka, A., M. Hernández, M. Velásquez, M. Guerra y G. Melo. 2007. Actividad antifúngica del quitosano

- en el control de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. y *Mucor* spp. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25(2): 109-113.
- Olsen, R.A. and L.R. Bakken. 1987. Viability of soil bacteria: Optimization of plate-counting technique and comparison between total counts and plate counts within different size groups. *Microbial Ecology* 13(1): 59-74.
- Pardo, G.F. y M. Barreto. 1986. Estudio agromédico sobre el uso de plaguicidas en los municipios de Aquitania y Toca (Boyacá). *Ciencia y Tecnología*. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Instituto de Investigaciones Agrarias. No 1. pp. 86-98.
- Ramírez, C.C. 1996. Purines. Herramientas útiles para proteger y mejorar cultivos. Guía para su preparación, uso y manejo. Manuscrito. Bogotá. 10 p.
- Restrepo, R.J. 2000. Agricultura orgánica, como preparar caldos nutricionales para suprimir deficiencias nutricionales y enfermedades en los cultivos. Santiago de Cali, Colombia. 83 p.
- Rivera, E, A. Herrera y L. Rodríguez. 2003. Procesamiento de papa criolla precocida y congelada mediante la técnica de congelación individual (IQF), en seis genotipos promisorios de papa criolla (*Solanum phureja*). *Agronomía Colombiana* 21(1-2): 95-101.
- Salazar, L., P. Winters, L. Maldonado, G. Hareau and T. Graham. 2009. Assessing the impact of late blight resistant varieties on smallholder's potato production in the peruvian Andes. Working Paper 2009-5. International Potato Center (CIP), Lima, Peru. 29 p.
- Scheuerell, S. and W. Mahaffee. 2002. Compost tea: principles and prospects for plant disease control. *Compost science and Utilization* 10(4): 313-338.
- Schmutterer, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology* 35: 271-297.
- Stephan, D., A. Schmitt, S. Martins, B. Seddon and E. Koch. 2005. Evaluation of biocontrol preparations and plant extracts for the control of *Phytophthora infestans* on potato leaves. *European Journal of Plant Pathology* 112: 235-246.
- Soylu, E.M., S. Soyly and S. Kurt. 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia* 161(2): 119-128.
- Zapata, J.L. 1996. Evaluación de Resistencia y control de *Phytophthora infestans* en clones de papa, Oriente antioqueño. pp. 204-208. En: *Papas Colombianas con el Mejor Entorno Ambiental*. Comunicaciones y Asociados Ltda, Fedepapa. 272 p.
- Zarb, J., R. Ghorbani, P. Juntharathap, P. Shotton, J. Santos, S. Wilcockson, C. Leifert, A.M. Litterick, R.A. Bain and M. Wolfe. 2002. Control strategies for late blight in organic potato production. pp. 221-222. In: Powell, Jane *et al.*, (eds.). *Proceedings of the UK Organic Research 2002 Conference*, Organic Centre Wales, Institute of Rural Studies, University of Wales Aberystwyth.