

**Capacitación a productores sobre el nematodo fitoparásito
Radopholus similis, en cultivos de musáceas y su respectivo
biocontrolador, *Paecilomyces lilacinus*, en el municipio de
Andes-Antioquia, Colombia**

Trabajo de grado
Modalidad práctica profesional.

Estudiante: Luisa Fernanda Rendón Restrepo
Número de identificación: 1027889966

Asesor: Jaime de Jesús Calle Osorno
Asesor enlace: Sara María Márquez Girón

Responsable alcaldía municipal: José María Restrepo Ramírez

**Universidad de Antioquia.
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
Instituto de Biología**

2020.

Agradecimientos

Quiero expresar mi gratitud a la Alcaldía Municipal de Andes, especialmente a la Gerencia de proyectos rurales, por poner a disposición su personal y los recursos necesarios para el desarrollo de estas prácticas.

Mi profundo agradecimiento al Laboratorio BIOMA de La Universidad de Antioquia y a todos sus integrantes, principalmente a mi asesor el Dr. Jaime de Jesús Calle Osorno, principal colaborador durante todo este proceso, por su dirección, conocimiento, enseñanza, dedicación y apoyo incondicional en este proyecto.

De igual manera mis agradecimientos a la Dra. Sara María Márquez, por su apoyo y disposición, y a la Universidad de Antioquia Seccional Suroeste por abrirme sus puertas y permitirme realizar toda mi formación académica.

También deseo manifestar mi agradecimiento a mis compañeras, porque juntas cumplimos con el objetivo de estas prácticas y logras dejar una enseñanza e cada productor.

Tabla de contenido

1. Introducción.	5
1.1 Plátano y banano	5
1.2 Nematodos fitoparásitos	5
1.3 <i>Radopholus similis</i>	7
1.4 Síntomas causados por <i>R. similis</i>	7
1.5 Métodos de control para <i>R. similis</i>	8
1.6 <i>Paecilomyces lilacinus</i> .	12
1.7 Municipio de Andes.	13
2. Objetivos de la práctica.	14
3. Materiales y métodos.	14
3.1 Acercamiento con la comunidad.	14
3.2 Capacitación de productores.	15
3.3 Replicación del hongo biocontrolador (<i>P. lilacinus</i>)	15
3.4 Preparación del bioformulado.	15
3.4.1 Cálculo de la concentración de conidios/ml – conidios/g	16
3.4.2 Determinación de porcentaje de germinación.	17
3.4.3 Determinación del porcentaje pureza	17
3.5 Entrega de los bioformulados.	17
4. Resultados.	18
4.1 Acercamiento a la comunidad	18
4.2 Capacitación de productores	19
4.3 Replicación del hongo biocontrolador.	20
4.4 Preparación del bioformulado.	22
4.5 Pruebas de laboratorio a los bioformulados:	23
4.5.1 Cálculo de la concentración de conidios/ml – conidios/g	23
4.5.2 Determinación de porcentaje de germinación	24
4.5.3 Determinación del porcentaje pureza:	24
4.6 Entrega de los bioformulados.	24
5. Análisis de resultados.	26
6. Bibliografía.	28

Resumen

En el municipio de Andes, una de las actividades que genera empleo e ingresos es el cultivo y la producción de plátano y banano. Estas musáceas se han visto afectadas por diferentes plagas y enfermedades, entre las cuales están los nematodos fitoparásitos de gran importancia económica como *Radopholus similis*, que son diseminados en muchas ocasiones al no tener un adecuado manejo del material de siembra. Debido a esto la alcaldía municipal en convenio con la Universidad de Antioquia en el proyecto “Una hectárea para la vida, una hectárea para la paz”, en su etapa “sostenibilidad para el campo”, han propuesto brindar capacitaciones a los productores a cerca de la problemática fitosanitaria que presentan actualmente estos cultivos. Por este motivo, el objetivo de estas prácticas profesionales es capacitar a los productores del municipio a cerca de nematodos fitoparásitos como *R. similis*, de su respectivo biocontrolador *P. lilacinus*, y como producir de manera artesanal el bioformulado a base de este hongo.

PALABRAS CLAVES: *Radopholus similis*, biocontroladores, control microbiológico, nemátodos, *Paecilomyces lilacinus*.

1. Introducción

1.1. Plátano y banano.

El cultivo y la producción de plátano y banano en Colombia son actividades generadoras de ingreso, empleo y divisas para el país. Son uno de los principales productos de la canasta familiar y son utilizados en la agroindustria en la producción de harina y de alimentos concentrados para alimentación animal (León et al. 2015). Estos cultivos en Colombia están localizados en zonas de climas templado y cálido, y son desarrollados en su mayoría por pequeños productores, quienes los comercializan en los mercados mayoristas y también los utilizan para el autoconsumo y la alimentación animal. El plátano y el banano se producen en diferentes agroecosistemas, en alturas comprendidas entre 0 y 2.000 m.s.n.m. y temperaturas comprendidas entre los 17 y los 35°C. En Colombia, el 85% de estos cultivos se encuentran asociados con café y otros cultivos tales como yuca y frutales, mientras que sólo 15% del área son monocultivos tecnificados (Meek y Navarrete 2001).

El plátano y el banano han sido tradicionalmente propagados por medio de material vegetativo o asexual, como cepas, cormos o yemas laterales, que emergen de la base de la planta principal de cultivos previos (Martínez et al. 1999). Debido a esto se deben tener ciertas medidas a la hora de usar el material de siembra, ya que al estar infectado ha propiciado la diseminación mundial de plagas (Sarah et al. 1996), principalmente de nematodos endoparásitos como *Radopholus*, *Meloidogyne* y *Pratylenchus* (Montiel et al. 1997).

1.2. Nematodos fitoparásitos

Según Agrios (2009), los nematodos son animales vermiformes, pertenecen al reino animal, son microscópicos, anillados, semejantes a una lombriz, muchos son de vida libre y otros parasitan tanto a animales como a plantas. Estos últimos, se encuentran con mayor abundancia en la capa de suelo comprendida entre los 0 y 15 cm de profundidad, aunque cabe mencionar que su distribución en los suelos cultivados es irregular y es mayor en torno a las raíces de las plantas susceptibles, a las que en ocasiones siguen hasta profundidades considerables

(de 30 a 150 cm o más). La mayor concentración de nematodos en la región radical de la planta hospedante se debe principalmente a su más rápida reproducción cuando el alimento es abundante y también a la atracción que tienen por las sustancias liberadas en la rizósfera (Brown 2009). Sin embargo, también se alimentan de hojas, tallos y flores de las plantas (Agrios 2009). Cuando llegan a infestar un suelo es prácticamente imposible eliminarlos. Pueden persistir en el suelo de un ciclo a otro y en varios casos por más de 20 años en ausencia de su hospedero. Para este fin, algunos géneros de nematodos han desarrollado estructuras de resistencia como el quiste y la matriz en cuyo interior se encuentran los huevos protegidos de condiciones ambientales adversas (Cepeda 2009). Los fitonematodos que atacan las musáceas, al alimentarse, empiezan a generar daños directos en el sistema radical afectando su función fisiológica, como poco anclaje, reducción en la absorción de agua y nutrientes, deficiencia en el crecimiento de la planta, disminución en el número y el tamaño de las hojas, menor peso del fruto y volcamiento de la planta; reduciendo a grandes niveles la producción, si no se realiza un manejo adecuado (Montiel et al. 1997).

Todos los estadios del banano y el plátano son susceptibles al ataque de nematodos fitoparásitos, y generalmente, el daño principalmente es causado por la hembra que es la que se alimenta de las raíces de la planta (Valencia et al. 2014) con el fin de enquistar y mantener protegidos los huevos, los cuales pueden perdurar varios años en el interior de la madre y la misma cantidad de tiempo en el suelo. La especie de nematodo de mayor importancia económica en los cultivos de musáceas en la mayoría de las regiones es *Radopholus similis* (Guzmán y Castaño 2004), que ha obligado a desarrollar estrategias de manejo genético, químico, biológico y cultural, que permitan la disminución de los daños ocasionados por ellos (Montiel et al. 1997).

Según Gélvez (2013) morfológicamente los nematodos en general suelen tener forma de hilo con una longitud entre 0,1 y 2-3 mm y un diámetro unas 20 veces menor que su longitud. Están recubiertos de una cutícula protectora y están constituidos por: aparato digestivo, aparato excretor, sistema nervioso, órganos sensoriales y órganos sexuales.

1.3. *R. similis*

La hembra de *R. similis* es vermiforme, de 530 a 772 μm de largo y 15 a 31 μm de ancho en la parte media. Su cutícula es ligeramente anillada. La región labial es redondeada (3 a 4 anulaciones). El estilete mide de 12 a 14 μm de largo con nódulos basales bien desarrollados. Bulbo medio bien desarrollado, ovalado de 10 a 12 μm de diámetro. Vulva prominente, debajo de la mitad del cuerpo. Es didélfica (con dos órganos reproductores funcionales). Espermatecas esféricas y una cola en forma de cono elongado con terminación ovalada. El macho también es vermiforme, arqueado ventralmente, de 515 a 632 μm de largo y 16 a 23 μm de ancho. Su región labial es bien definida del resto del cuerpo con 4 o 5 anulaciones. El estilete está degenerado, sin nódulos basales visibles. No se logran apreciar el bulbo medio y el aparato valvular. Posee una espícula fuerte de 18 a 20 μm de largo (Carrión et al. 2015).

El ciclo de vida de *R. similis*, como la mayoría de los nematodos, tiene cuatro estados juveniles y el adulto. El estado J1 se desarrolla dentro del huevo, luego muda la cutícula y luego de 8 a 10 días emerge el J2. Los estados J2, J3 y J4 también mudan la cutícula hasta llegar al estado adulto entre 10 y 13 días. El estado J2 y la hembra adulta son infectivos y tienen formas móviles que pueden abandonar las raíces en condiciones adversas, llegando al suelo para parasitar nuevamente raíces sanas. El movimiento de los juveniles y las hembras es estimulado por factores nutricionales, ya que necesitan tejido sano para alimentarse. Después de iniciar su alimentación, *R. similis* completa su ciclo de vida entre 20 y 25 días en los tejidos de las raíces y cormos a una temperatura entre 24 y 32°C (Guzmán 2011). Este grupo de nematodos al concluir su ciclo de vida dentro de las raíces y producir varias generaciones sin estar expuestos a antagonistas que se encuentren en el suelo, se consideran uno de los endoparásitos migratorios de plantas más difíciles de combatir (Vargas et al. 2015).

1.4. Síntomas causados por *R. similis*.

Los síntomas se pueden detectar cuando se observan raíces con lesiones y perforaciones en forma de estrías, de aproximadamente 10 cm de longitud. Inicialmente, son de color amarillo claro, luego, rosado rojizas y, finalmente, café o negras. En algunos casos produce depresiones en el tejido que modifican la

anatomía cilíndrica original de las raíces (Oramas 2006). En infestaciones altas, las lesiones rodean completamente las raíces, destruyéndolas totalmente (Sarah et al. 1996). Dicha coloración, se caracteriza por estar infestada con todos los estados de desarrollo del nematodo, luego de que el tamaño de la lesión aumenta y se forman cavidades en la corteza, microorganismos secundarios pueden ocasionar la muerte de la raíz (Barrera et al. 2011), la base del tallo a menudo presenta zonas corchosas, motivadas por altas infecciones que han provocado la pérdida tanto de las raíces de anclaje como de las raíces absorbentes. Las perforaciones hechas por la entrada de los nematodos y la necrosis favorecen la pudrición por hongos, bacterias saprofitas o fitopatógenas y excesos de humedad. Según Agrios (2009), estos síntomas con frecuencia van acompañados por manifestaciones no características en los órganos aéreos de las plantas y que aparecen principalmente en forma de un menor crecimiento, señales de deficiencias en nutrientes como el amarillamiento del follaje, el marchitamiento excesivo en tiempo cálido o seco, una menor producción de las plantas y una baja calidad de sus productos. Como consecuencia a lo anterior, también se produce alargamiento del ciclo vegetativo y un crecimiento retrasado respecto al resto del cultivo (Sarah 2000); hay que tener en cuenta que en muchas ocasiones se relaciona el daño causado por nematodos con labores de manejo como exceso o falta de fertilización.

1.5. Métodos de control para *R. similis*.

El control y manejo de nemátodos es bastante complicado por medios convencionales, ya que normalmente cuando el agricultor nota señales de estrés en el cultivo la plaga ya está establecida (Samaniego 2015).

Durante muchos años, las tendencias de las actividades agrícolas giraron en torno al incremento de la producción de los cultivos a fin de maximizar los rendimientos y beneficios económicos por unidad de superficie, sin considerar el impacto en el ambiente y la sostenibilidad de los esquemas de producción en el tiempo. Esto ha generado una pérdida de la funcionalidad del sistema de producción, con énfasis en el deterioro en la calidad del suelo y en su biodiversidad biológica (Céspedes 2009).

Cuando los recursos naturales son usados mucho más rápido que lo que el propio sistema agrícola puede reponerlos, va a empezar a ocasionar una dependencia en el uso de productos sintéticos, generando a su vez la disminución de la actividad de algunos insectos benéficos y de la microfauna asociada al cultivo, por este motivo es muy importante desarrollar estrategias que contribuyan al beneficio de la actividad y la estabilidad de organismos benéficos (Valencia et al. 2015).

Una vez se detecta la presencia de la plaga, se deben empezar a implementar acciones para el manejo de las mismas, donde se debe tener en cuenta los efectos que provoca la plaga para así implementar una serie de controles y disminuir sus niveles (Piedra 2007). Los métodos de control han venido evolucionando, volviéndose cada vez más complejos, y han tenido un impacto negativo sobre los ecosistemas, especialmente con el uso indiscriminado de plaguicidas sintéticos. Así el Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades (MIPE), surge como una tecnología que se basa en la filosofía de manejo de plagas y enfermedades, rigiéndose a ciertos criterios económicos, ecológicos y sociales. Según la FAO el manejo integrado de plagas y enfermedades es un sistema de manejo o control que, en el contexto del ambiente asociado y la dinámica poblacional de la especie plaga, utiliza todas las técnicas y métodos adecuados de una manera tan compatible como sea posible, y mantiene las poblaciones plaga a niveles inferiores a las de aquellas que causan daños o pérdidas económicamente inaceptables, donde se debe tener en cuenta la fenología de la planta y la importancia de la presencia de organismos fitófagos y benéficos (Manejo Integrado de Plagas 2001). Este tipo de manejo tiene en cuenta varios tipos de controles, como lo son: el cultural, el legal, el biológico o microbiológico, el genético y el químico.

A pesar de que el control químico se encuentre dentro de las opciones de manejo, su aplicación no es la más apropiada debido a las consecuencias que conlleva en la salud humana, animal y ambiental (Piedra 2007); puesto que los plaguicidas, nematicidas, fungicidas y herbicidas dejan gran cantidad de residuos en los alimentos y organismos que ocupan cada parte del ecosistema. Otros graves problemas que causan estos agrotóxicos son: Resistencia de poblaciones plagas, destrucción de la microfauna y especies benéficas, resurgencia de poblaciones tratadas (con mayor resistencia), irrupción de plagas secundarias, residuos en alimentos y aguas, riegos en la salud animal, humana y ambiental (Manejo

Integrado de Plagas 2001). Por estos motivos, el más favorable es el manejo biológico, ya que tiene una gran importancia a nivel social, económico y ambiental; basándose en reconciliar la producción agropecuaria con la conservación de los recursos, utilizando principios de manejo ecológico y logrando productividades de largo plazo, mediante la adaptación de las prácticas de manejo a los requerimientos del predio y sus problemas, promoviendo e incrementando la salud del agroecosistema, incluyendo la biodiversidad, los ciclos biológicos, y la actividad biológica del suelo. Incentivando el uso de métodos agronómicos, biológicos y mecánicos en las prácticas de manejo, con el propósito de reducir la utilización de insumos sintéticos externos como pesticidas y fertilizantes (Céspedes 2009).

Las principales estrategias de manejo de los nematodos fitoparásitos en musáceas están determinadas por prácticas agronómicas, tales como: evitar la introducción de los nematodos en el suelo antes de establecer un cultivo, promover la sanidad y el vigor de las raíces de las plantas, reducir la oportunidad que el nematodo penetre las raíces o rizomas y utilizar material de siembra libre de fitonematodos (Guzmán y Castaño 2004).

El control biológico busca reducir las poblaciones de la plaga a una proporción que no cause daño económico, y permite una cantidad poblacional de la plaga que garantiza la supervivencia del agente controlador, manteniendo su propia población y previniendo que la plaga retorne a grados poblacionales que causan daño (Nicholls 2008).

Como todos los métodos de control tienen ventajas y desventajas, entre las primeras se destacan la casi nula contaminación del medio ambiente, que no selecciona la resistencia de la plaga, que el control con frecuencia es a largo plazo y su relación costo-beneficio es muy favorable. Por el contrario, dentro de las desventajas está el que la efectividad de los enemigos naturales es relativa a los niveles de daño preestablecidos para determinada plaga (problema con umbrales económicos bajos), que no hay un control completo de la plaga, la ignorancia sobre sus principios y funcionamiento, y la falta de apoyo para su desarrollo (Fischbein 2012). El control biológico es un componente básico del manejo integrado de plagas, no es una medida emergente que se utiliza cuando

las otras fallaron, se basa en el efecto que los enemigos naturales (consumidores secundarios) tienen sobre las plagas agrícolas (consumidores primarios) regulando su población, en un proceso densodependiente (García 2000). Contra este tipo de plagas, el control biológico posee una efectividad limitada, en cualquiera de sus formas de implementación, sin embargo, en la medida en que aprendamos acerca de la biología y ecología de las plagas, y de sus enemigos naturales y en la medida en que dejemos de depender de los plaguicidas, implementando todas las medidas posibles no químico-sintéticas, el manejo apropiado de cualquier plaga agrícola será más factible (Moncada 2009).

La mayoría de las plagas y organismos fitopatógenos tienen antagonistas biológicos o enemigos naturales que se pueden emplear como estrategia de control (Susan 2005). En este tipo de manejo se hace uso de un organismo vivo para reducir o mitigar la población de otro organismo vivo (Piedra 2007). La idea de control biológico comenzó al querer utilizar organismos o microorganismos que cumplieran un papel importante en la reducción de población de plagas y enfermedades a los que se veía enfrentado el cultivo y que a su vez fueran amigables con el medio ambiente y no afecten la salud humana y animal. Según Susan (2005), generalmente este manejo tiene efectos más específicos que el control químico, y solo el microorganismo patógeno o la plaga clave se ve negativamente afectada, respetando a otros microorganismos beneficiosos y fauna útil. Por lo tanto, este control es más persistente y compatible con los objetivos de la agricultura sostenible. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el control biológico no pretende reemplazar completamente demás sistemas de manejo, al contrario, puede ser utilizado junto con otras técnicas como parte de un sistema integrado de manejo de plagas y enfermedades.

El control microbiológico puede definirse como la utilización de microorganismos patógenos, para el manejo de poblaciones de organismos plaga, ya sea insectos, fitopatógenos o malezas. Los agentes microbianos en el control de plagas y enfermedades poseen la ventaja de ser muy específicos, son ambientalmente seguros, poseen una alta virulencia contra la especie a controlar y son compatibles con otros tipos de control (químico, biológico, cultural). Microorganismos antagonistas establecidos en el lugar de siembra antes o durante el cultivo, pueden ser usados para prevenir la infección (Román 2001).

Los antagonistas utilizados para el manejo de plagas son bacterias, virus, nematodos, hongos, protozoos, etc., (Atlas et al. 2002).

La población plaga puede estar regulada por la aparición frecuente de epizootias importantes, causadas por hongos. Por tal razón, estos últimos se utilizan como una herramienta de manejo de plagas, mediante el desarrollo de bionematicidas. Sin embargo, se debe tener en cuenta la heterogeneidad de la calidad del hongo y las limitaciones climáticas en donde actúen. En el mundo hay distribuidas más de 700 especies de hongos entomopatógenos; sin embargo, solo unos pocos se estudian en profundidad (Guzmán et al. 2012).

1.6. *Paecilomyces lilacinus*

Es clasificado como predador y endoparásito de larvas de nematodo (Aranzazuh et al. 1999). Su actividad se ve favorecida por la producción de sustancias antibióticas de tipo peptídico y quitinolítico, que le permiten colonizar rápidamente la rizosfera y controlar huevos de nematodos. Es un micoherbicida con alta capacidad de búsqueda, alto grado de especificidad, elevada tasa de reproducción, habilidad para ocupar todos los hábitats del hospedero, buena capacidad de supervivencia, potencial para la cría artificial, baja susceptibilidad a químicos y una buena sincronía con hospedantes/presa (Aristizabal et al. 2009). *P. lilacinus* es efectivo contra *R. similis* en banano y plátano, principalmente cuando se utiliza como agente preventivo o contra infecciones ligeras. Además de eso favorece la disponibilidad de fósforo en el suelo, contribuyendo a una mejor producción del cultivo (Vargas et al. 2015)

Generalmente parasita huevos, juveniles y adultos del nematodo, sin producir ninguna toxina (Cayrolc et al. 1989). Cuando las esporas del hongo entran en contacto con los nematodos se inicia el proceso de infección ya que encuentra las condiciones ideales para comenzar su proceso de germinación y desarrollo. Estas esporas producen enzimas líticas que diluyen la cutícula y penetran al interior del nematodo, una vez haya ingresado al hospedero se comienza a reproducir rápidamente emitiendo metabolitos tóxicos que provoca deformaciones, vacuolizaciones y pérdida del movimiento del nematodo, causándole hasta la muerte (Luangsa 2011). Las toxinas que son producidas por el hongo afectan el sistema nervioso y pueden provocar deformación en el estilete de los nematodos

que llegan a sobrevivir, lo que permite reducir las poblaciones de la plaga y por ende el daño causado por el mismo en cultivos de importancia económica (FUNICA 2009)

Al tener en cuenta que es un hongo natural del suelo, su aplicación se debe realizar antes de llevar a cabo el proceso productivo del cultivo, con el fin de que las esporas puedan activarse al tiempo en el que el nematodo inicie su ciclo para que de esta manera pueda consumirlos como fuente de energía y alimento por medio de su interacción, determinada como adhesión y liberación de toxinas (Gómez et al. 2008). Este hongo al tener la habilidad de sobrevivir en materia orgánica y siempre se va a encontrar presente en el campo principalmente en zonas húmedas y donde hay bastantes individuos plaga (Aristizábal 2009). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue capacitar a los productores del municipio a cerca de los nematodos fitoparásitos, de su respectivo biocontrolador y como producir de manera artesanal el bioformulado a base de este hongo.

1.7. El Municipio de Andes

La alcaldía municipal de Andes es una entidad pública, que tiene como objetivo principal mantener el bienestar de la comunidad andina; además entre sus roles brinda a estudiantes de educación superior la posibilidad de realizar prácticas profesionales en diferentes ámbitos de acuerdo al interés y carrera del estudiante. En esta entidad existen diferentes departamentos, entre los cuales se encuentra la Gerencia de proyectos rurales, la cual vela por ayudar a desarrollar una agricultura sostenible, donde se implementen productos biológicos que ayuden al control de plagas y enfermedades.

En el municipio los cultivos de musáceas presentan alta incidencia de plagas y enfermedades, las cuales al sobrepasar los umbrales de acción generan daño económico; por otro lado, el mal manejo de agroquímicos ayuda a que los patógenos desarrollen resistencia y de esta manera es muy posible la resurgencia de plagas, además de afectar el medio ambiente y causar daños en la salud a quienes lo implementan.

El programa UNA HECTAREA PARA LA VIDA, UNA HECTAREA PARA LA PAZ, acoge dentro de sus etapas el proyecto Sostenibilidad para el campo, en el cual desarrollé mi práctica profesional aportando un conocimiento científico acerca de

MIPE (Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades), y la producción de bioformulados a base de hongos entomopatógenos (controladores).

2. Objetivos de la práctica.

2.1 General.

- Capacitar a productores acerca del nematodo fitoparásito *Radopholus similis* y su biocontrolador, *Paecilomyces lilacinus*, en la implementación de una agricultura sostenible en cultivos de plátano y banano en el municipio de Andes, Antioquia.

2.2 Específicos.

- Presentar el proyecto a los beneficiarios de los siete corregimientos del municipio de Andes en los cuales hay producción de plátano y banano.
- Instruir a los productores de plátano y banano sobre los efectos de la enfermedad causada por los nematodos fitoparásitos como *R. similis* y la forma de control con el hongo antagonista *P. lilacinus*.
- Capacitar en la producción de bioformulados a base *P. lilacinus* para el control de *R. similis*, en cultivos de plátano y banano del municipio de Andes para entrega a los productores.

3. Materiales y métodos

Los métodos están basados en dos partes prácticas; la primera se realizó en campo con los productores y la segunda en el laboratorio. A continuación, se desglosa cada una de las actividades realizadas durante la práctica:

3.1. Acercamiento a la comunidad

La primera actividad que se llevó a cabo fue la presentación del proyecto en los en los corregimientos de Buenos Aires, San José, Santa Inés, Santa Rita, Tapartó, San Bartolo y La Chaparrala del municipio de Andes. En este

acercamiento se dieron a conocer las generalidades sobre la problemática agroecológica que está afectando a los cultivos de musáceas, al medio ambiente y a la vez a la economía de los productores en el municipio.

3.2. Capacitación de productores

Se efectuó la capacitación intensiva, con una duración de 8 horas aproximadamente, en las instalaciones de la Sede Seccional Suroeste de la Universidad de Antioquia, donde se abordaron a profundidad temas sobre MIPE (Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades), plagas y enfermedades presentes en cultivos de musáceas, con un enfoque agroecológico sobre la enfermedad causada por *R. similis* y su biocontrol *P. lilacinus*. Además de esto unas recomendaciones de cómo preparar el suelo pre y post cosecha, la producción artesanal de los bioformulados y la preparación para ser esparcidos a los cultivos.

3.3. Replicación del hongo biocontrolador (*Paecilomyces lilacinus*).

En las instalaciones de la misma sede, se replicó el hongo biocontrolador (*P. lilacinus*) el cual fue entregado por el laboratorio de Biocontrol y Microbiología Ambiental -BIOMA- del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia. Para esto con la ayuda de un asa se tomó una cantidad de esporas del hongo y se sembró en medio Sabouraud para asegurar su perdurabilidad y mantenerlo en el laboratorio para la producción máxima y preparación de los cultivos artesanales.

3.4. Preparación del bioformulado

Para la preparación del bioformulado, inicialmente se tomaron 180 g de arroz, y se depositaron en bolsas de polipropileno, se le agregaron 60 ml de agua destilada y 4 gotas de ácido láctico, se sellaron con ganchos, para ser llevadas al autoclave, junto con los utensilios y cristalería (erlenmeyer, beakers, cajas de Petri) que serían utilizados en la preparación de estos bioformulados, con el objetivo de eliminar todo tipo de agente contaminante que pueda afectar el crecimiento del hongo.

Después de esterilizar el medio de cultivo (las bolsas) y los utensilios, se esperó que se enfriara un poco; mientras este tiempo transcurría se realizó la suspensión del hongo. Para realizar la suspensión en un tubo falcon se adicionaron 10 ml de

agua destilada y con la ayuda de un asa se tomó una cantidad de esporas del hongo *P. lilacinus*, luego con un vórtex se agitó hasta tener una mezcla homogénea.

Posteriormente con una micropipeta se sembró en cada bolsa 100 microlitros de la suspensión con una concentración de 10×10^8 conidios/ml del hongo, se homogenizó el medio de cultivo, se doblaron los bordes de las bolsas y se sostuvieron con ganchos. Todo el procedimiento se realizó de manera muy cuidadosa para evitar cualquier tipo de contaminación.

Por último, las bolsas fueron llevadas a incubación para el crecimiento del hongo en el medio de cultivo, para esto se colocaron en sobre un estante desinfectado previamente con alcohol, para así observar el crecimiento entre los próximos 9 a 13 días.

Posteriormente se llevó a cabo el proceso de la determinación de concentración, pureza y viabilidad de cultivos de hongos biocontroladores producidos artesanalmente, para esto la metodología realizada es la siguiente: Determinación de concentración, pureza y viabilidad de bioformulados a base de *P. lilacinus*, producidos artesanalmente.

3.4.1 Cálculo de la concentración de conidias /ml – conidias/g.

La extracción de conidias se realizó a partir del material sembrado en clases anteriores, sobre el sustrato orgánico (arroz). Se tomaron 200 ml de agua destilada estéril -ADE- agregándolos al interior de la bolsa inoculada con el hongo, junto con una gota de dispersante (tween 20). Posteriormente se tomó una espátula o barra de vidrio para separar el hongo del sustrato, hasta obtener una sustancia homogénea, se filtró toda la suspensión con una gasa colocada en un beaker.

De la anterior filtración (suspensión madre), se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-5} . Con una cámara de Neubauer, se hizo el conteo de esporas introduciendo a cada lado 10 μ l. El primer conteo se realizó con la dilución 10^{-3} , si la cantidad de conidios no permitieron una buena lectura, se procedió a realizar las lecturas en la dilución 10^{-4} . Se realizaron 3 montajes en la cámara, de los cuales se hicieron 6 lecturas, sacando el promedio de las conidias contadas, con

la siguiente formula: No. conidios/ml= Promedio del conteo * el inverso de dilución empleada * 10⁴ (10⁴ es un valor constante y corresponde al inverso del Factor de corrección de la cámara). Por último, se calcula la concentración de esporas/ g de arroz con la siguiente fórmula:

$$\text{Conidios / g de arroz} = \frac{\text{Promedio del número de conidias/ml} * 200 \text{ ml}}{180 \text{ g.}}$$

3.4.2. Determinación de porcentaje de germinación.

Se tomaron dos cajas de Petri que contenían agar-agar, cada caja se dividió en 6 cuadrículas (aproximadamente 1cm²) utilizando un marcador en el reverso de la caja. Se tomaron 5 µl de las diluciones 10⁻³ y 10⁻⁴ y se sirvieron en el agar, en cada cuadrícula y se incubó por 24 horas. Luego se realizó un montaje tomando una cuadrícula del agar y colocándola sobre un portaobjetos. A cada cuadro se le agregó una gota de azul lactofenol y se procedió a realizar el conteo de las conidias germinadas. El criterio en este conteo consiste en que el tubo germinativo debe superar, como mínimo, dos veces el diámetro de la conidia.

3.4.3. Determinación del porcentaje pureza

Se tomaron 100 µl de la dilución 10⁻³ y 10⁻⁴, luego se sembraron en PDA acidificado y se Incubaron a temperatura ambiente de 5 y 7 días. Luego se contó el número de UFC totales (el número de colonias del hongo en estudio y el número de colonias de hongos o levaduras de otro tipo), lo que llevo a calcular el porcentaje de pureza, de acuerdo con la fórmula:

$$\%P = \text{UFC del hongo evaluado} \times 100 / \text{UFC totales.}$$

3.5 Entrega de los bioformulados.

Finalmente, a cada productor se le procedió a entregar el producto elaborado en el laboratorio con sus respectivas pruebas, en las instalaciones de la Sede Seccional Suroeste de la Universidad de Antioquia. En esta última etapa se les

recordó aspectos básicos enseñados en la capacitación y además se les enseñó la producción artesanal de los bioformulados y la preparación para ser esparcidos al cultivo, por medio de una demostración de método y con la entrega de un folleto.

4. RESULTADOS

4.1. Acercamiento a la comunidad:

En el mes de agosto del 2019, se realizaron las conferencias donde se presentó el proyecto en los diferentes corregimientos: Buenos Aires, San José, Santa Inés, Santa Rita, Tapartó, San Bartolo y La Chaparrala del municipio de Andes. En esta presentación se instruyó a la comunidad acerca de los altos niveles poblacionales de *R. similis* en cultivos de musáceas en este municipio, y a su vez la problemática ambiental que está generando el uso intensivo de agrotóxicos en el manejo de plagas y enfermedades. También se tocaron temas de cómo llevar a cabo buenas prácticas agrícolas en el cultivo, incentivando a la población a generar un buen pensamiento agroecológico, implementando el control biológico.



Fotografía 1 : Presentación del proyecto a los productores del corregimiento Buenos Aires

4.2. Capacitación de productores.

Llevando a cabo el objetivo de esta práctica, y consolidando el grupo definitivo de beneficiarios del programa UNA HECTAREA PARA LA VIDA, UNA HECTAREA PARA LA PAZ, se capacitaron los integrantes pertenecientes a la etapa de este proyecto, llamada sostenibilidad para el campo. Estas capacitaciones se desarrollaron en las instalaciones de la Universidad de Antioquia Seccional Suroeste, en el mes de septiembre, para los corregimientos Santa Rita, Santa Inés, Buenos Aires, San José, Tapartó, San Bartolo y la Chaparrala.

Cada capacitación que constaba de 8 horas se dividió en cuatro módulos.

En el primero se dictaron los temas correspondientes a MIPE, exponiendo su objetivo y los tipos de control (cultural, legal, biológico, genético y químico), ventajas y desventajas del uso de agroquímicos, y una introducción de Musáceas, además de esto se realizaron unas recomendaciones de cómo preparar el suelo pre y post cosecha, mostrándoles una manera efectiva de prevenir enfermedades posteriores al cultivo.

En el segundo módulo se introdujeron los conceptos de plaga y enfermedad, se expusieron los principales patógenos que afectan la producción de plátano y banano en el municipio, específicamente de. Haciendo énfasis en qué es, su biología, su modo de infección, como se identifica (síntomas) y los daños económicos que causan en la producción de musáceas.

En el tercero se abordaron los métodos de control actualmente utilizados para el manejo de *R. similis*, haciendo énfasis principalmente en el biológico; donde se expuso los beneficios que este trae al medio ambiente, al cultivo y al productor, pues disminuye los costos de producción al reducir la cantidad de insumos utilizados para el cultivo y mejora las relaciones tróficas.

En el cuarto se les enseñó una nueva alternativa para el control de *R. similis*, que consiste en unas bioformulaciones a base de hongos como *Paecilomyces lilacinus*. Durante esta etapa se les dictó las generalidades del hongo, la preparación de los bioformulados artesanales en el laboratorio y como es el

proceso para ser implementado en campo, facilitándoles un folleto que contenía toda esta información.



Fotografía 2 Capacitación a los productores de los diferentes corregimientos Santa Rita, Santa Inés, Buenos Aires, San José, Tapartó, San Bartolo y la Chaparrala, y beneficiarios del programa “Una hectárea para la vida, una hectárea para la paz” que asistieron a las instalaciones de la Universidad de Antioquia Seccional Suroeste.

4.3. Replicación del hongo entomopatógeno

Se sembró el hongo *P. lilacinus* en Agar Sabouraud, con el fin de replicarlo para su uso en la producción y preparación de los cultivos artesanales.



Fotografía 3: Preparación del medio de cultivo, suspensión de esporas y sembrado.



Fotografía 4: Desarrollo del hongo en medio de cultivo, luego de la replicación.

4.4. Preparación del bioformulado

Al llevar a cabo el procedimiento de preparación, se logró obtener el bioformulado, donde se pudo observar bastante micelio de *Paecilomyces lilacinus*.



Fotografía 5: Se incorpora el arroz, el agua destilada y el ácido láctico en las bolsas de polipropileno, se sellan con cinta y se llevan al autoclave.



Fotografía 6: Se prepara la concentración de la suspensión a base del hongo *P. lilacinus*, para luego adicionarla al arroz, incubarla y esperar unos días para ver el crecimiento de micelio.

4.5 Pruebas de laboratorio a los bioformulados:

4.5.1 Cálculo de la concentración de conidios/ml – conidios/g.

- Para la concentración de 10^{-3}

No. conidios/ml= Promedio del conteo * el inverso de dilución empleada * 10^4 (10^4 es un valor constante y corresponde al inverso del Factor de corrección de la cámara) = No. conidios/ml= $3.05 * 10^3 * 10^4 = 3.05 * 10^8$ conidios/ml

Conidios / g de arroz= Promedio del número de conidios/ml * 200 ml = 180 g
 Conidios/ g de arroz= $3.05 * 10^8$ conidios/ml * 200 ml = $8.32 * 10^8$ Conidios/ g
 180 g

4.5.2. Determinación de porcentaje de germinación

Después de realizar todo el procedimiento de siembra en cada caja de Petri con cada una de la concentración correspondiente, se incubaron durante 8 horas a temperatura para obtener los siguientes resultados:

- Concentración 10^{-3}

Conidias germinadas: 90 %

Conidias no germinadas: 10 %

- Concentración 10^{-4}

Conidias germinadas: 75%

Conidias germinadas: 25%

4.5.3. Determinación del porcentaje pureza

El hongo *P. lilacinus*, se incubo durante 5 días, aunque en la gran mayoría de las réplicas se evidenciaba un crecimiento a los 3 días, en todas las muestras se obtuvo un porcentaje de pureza del 100%, no se evidencio el crecimiento ni de otro tipo de hongo o levadura.

4.6. Entrega de los bioformulados.

Las capacitaciones a los productores se llevaron a cabo exitosamente de acuerdo con el cronograma de actividades y se logró cumplir el objetivo principal de esta práctica académica. A demás de esto se pudo notar el interés por parte de los beneficiarios del programa a la información que se les estaba proporcionando, lo que hizo mucho más satisfactoria la culminación de este proyecto.



Fotografía 7: Repartición del bioformulado y apoyo en dudas de los productores



Fotografía 8: Entrega del bioformulado a los productores el último día de la capacitación.

5. ANALISIS DE RESULTADOS

La presentación del proyecto en los diferentes corregimientos del municipio fue acogido y aprobado por los productores pertenecientes al proyecto brindado por la Alcaldía Municipal. Los 250 integrantes del programa UNA HECTÁREA PARA LA VIDA, UNA HECTÁREA PARA LA PAZ asistieron de manera responsable a cada una de las capacitaciones brindadas, se mostraron interesados en el tema de control biológico, en la producción artesanal de bioformulados y cómo tratar de aportar para el mejoramiento del medio ambiente practicando una agricultura ecológica y sustentable.

Para la producción de bioformulados en el laboratorio de la Universidad de Antioquia Seccional Suroeste, se obtuvieron los resultados esperados, pues se logró aislar y reproducir el hongo, para su posterior preparación de manera artesanal.

En cuanto las pruebas de laboratorio realizadas a los bioformulados se obtuvo una concentración de $8.32 \cdot 10^8$ Conidios/ g de arroz, en la concentración de 10^{-3} . El valor obtenido indica que los bioformulados eran viables para su implementación en campo

El porcentaje de conidias germinadas (aquellas cuyo tubo germinativo es al menos 2 veces el diámetro de la conidia), fue del 90 % en la concentración 10^{-3} , y del 75% para la concentración 10^{-4} , en aproximadamente 12 horas. Este resultado se calculó por observación y recuento microscópico.

La determinación del porcentaje de pureza fue del 14 %, hay que resaltar que en esta prueba hubo un poco de contaminación en el medio de cultivo donde estaba sembrado *P. lilacinus*, posiblemente por bacterias.

Después de realizar las pruebas correspondientes al bioformulado a base de *P. lilacinus*, y utilizar los métodos ya conocidos y mencionados con anterioridad, concluyo que los bioformulados van a ser efectivos en campo, si se realiza una correcta aplicación en los cultivos de plátano y banano, pues los resultados de las pruebas indicaron unos altos valores de viabilidad, germinación y pureza.

En los productores se pudo evidenciar que la información que recibieron les quedó clara, pues estuvieron muy activos y se notó el interés por aprender más sobre este tema, además se respondieron las dudas que les surgían, para así asegurar que todo quedara entendido. Claramente notaron que el control biológico es una alternativa muy viable, pues tienen la experiencia y saben que los métodos convencionales que han venido aplicando, especialmente con químicos, ya no les da resultados y además está afectando no solo sus cultivos, sino su economía.

6. BIBLIOGRAFIA

- Agrios G. (2009). Fitopatología. 5 Ed. Limosa, Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana.
- Aranzazuh, P. Leguizamón, J. Davila, M. (1999.febrero 4). Efecto de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma koningii* sobre estados biológicos de *Eisenia foetida*. Cenicafe, volumen 50 (1), pp 39-48.
- Aristizabal, J. Aristizabal, M. Gonzales, C. (2009, octubre 15). Evaluación biológica del manejo de picudos y nematodos fitopatógenos en plátano (Musa AAB). Acta agronómica, Volumen 58, pp. 260-269.
- Atlas, R. Bartha, R. (2002). Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental. 4 Ed. Madrid, Pearson Educación.
- Barrera, J. Cardona, C. Cayón. D. (2011). El cultivo de plátano (Musa AAB Simmonds): ecofisiología y manejo cultural sostenible, Cordoba, Editorial Zenú.
- Brown, R. (2009). Principios y prácticas en el control de nematodos, Sydney, Academia Press
- Carrion, G. Lara, S. Lopez, D. Nuñez, A. (2015, Noviembre 26). Nematodos fitoparásitos asociados a raíces de plátano (*Musa acuminata* AA) en el centro de Veracruz, México. Revista Mexicana de FITOPATOLOGÍA, Volumen 34(1), pp. 116-130.
- Cayrolc, J. Djian, A. Pijarowski, L. (s.f). Study of the nematocidal properties of the culture filtrate,of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus*. Revue Nématol. Volumen 12 (4), pp. 331-336.
- Cepeda, M. (2009). Nematología Agrícola, Trillas: México DF, Revista Mexicana de Fitopatología.
- Céspedes, M. (s.f). Agricultura Ecológica: Principios y Manejo Sustentable del Suelo. Recuperado de: <https://www.semanticscholar.org/paper/Primer-simposium-internacional-de-agricultura-Guillermo-Manuel/c1702b627621bb1804032992d0e21bfd0164defc>

- Fischbein, D. (2012). Introducción a la teoría de control biológico de plagas, Bariloche, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- García, F. (2000). Control Biológico de Plagas, Palmira, Corpoica.
- Gomez, M. Rojas, T. (2008, enero). Efecto de dos especies de hongos simbioses en el crecimiento de plátano (*Musa AAB*) cv “Curraré” y el control del nemátodo barrenador *Radopholus similis* COBB. Revista Tumbaga. Volumen 3, pp.30-42.
- Guzmán O, Castaño J. (2004, Junio 17). Reconocimiento de nematodos fitopatógenos en plátano Dominico Harton (*Mussa AAB SIMMONDS*), África, FHIA-20 y FHIA-21 en la granja Montelindo, municipio Palestina (Caldas), Colombia. Revista Académica Colombiana de Ciencias, volumen 28 (107), pp. 295-301.
- Guzmán, O. (2011, octubre 04). EL NEMATODO BARRENADOR (*Radopholus similis* [COBB] THORNE) DEL BANANO Y PLÁTANO. Revista Luna Azul, volumen 41, pp. 1-17.
- Guzmán, O. Castaño, J. Villegas, B. (2012, junio 30). EFECTO DE LA LIMPIEZA SANITARIA DE CORMOS DE PLÁTANO (*Musa AAB SIMMONDS*) SOBRE NEMATODOS FITOPARÁSITOS. Revista Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, actualidad y divulgación científica, Volumen 15(1), pp. 87 – 95.
- León, L. Mejía, L. Montes, L. (2015, abril 30). Caracterización socioeconómica y tecnológica de la producción del plátano en el bajo Occidente del departamento de Caldas. Revista Luna Azul, volumen 41, pp. 184-200.
- Luangsa, J. Houbraken, J. Doorn, T. Hong, S. Borman, A. Hywel, J. Samson, R. (2011, Mayo 27). *Purpureocillium*, a newgenus for themedically important *Paecilomyces lilacinus*. Mycobiology Letters, volume 321, pp. 141–149.
- Manejo Integrado de Plagas (2019, febrero 13). Recuperado de: <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/Oirsa/50000083.pdf>

- Meek, E. Navarrete, H. (2001, diciembre 5). Acuerdo de competitividad de la cadena productiva del plátano en Colombia. Colección documentos IICA [Internet], pp.1-76.
- Moncada, E. (s.f). Principios, Alcances e Implementación del Control Biológico. Recuperado de: <https://www.semanticscholar.org/paper/Primer-simposium-internacional-de-agricultura-Guillermo-Manuel/c1702b627621bb1804032992d0e21bfd0164defc>
- Montiel, A. Sosa, L. Medrano, C. Romero, D. (1997, Octubre 2). Nematodos fitoparásitos en plantaciones de plátano (*Musa AAB*) de la margen izquierda del río Chama, Estado Zulia, Venezuela. Revista facultad Agronómica, Volumen 14, pp. 245-251.
- Nicholls, C. (2008). Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Medellín, Colombia: Editorial Universidad de Antioquia.
- Oramas, D. Roman, J. (2006, septiembre 19). Histopatología de los nematodos *Radopholus similis*, *Pratylenchus coffeae*, *Rotylenchulus reniformis* y *Meloidogyne incognita* en plátano (*Musa acumulata* X *M. balbisiana*, AAB). The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Volumen 90(1-2), pp. 83-97.
- Piedra, R. (2007, octubre 10). Manejo Biológico de Nematodos fitoparasitos con Hongos y Bacterias. Tecnología en Marcha, Volumen 21(1), pp. 123-132.
- Román, J. 2001. Diagnóstico y combate de nematodos, Puerto Rico, Universidad de Puerto Rico.
- Samaniego, J. (2015, 08 diciembre). Efectos de la concentración de carbono y la relación carbono/nitrógeno sobre la producción de conidias de *Paecilomyces lilacinus*. Repositorio Digital Universidad San Francisco de Quito. pp. 1-58.
- Sarah, J. Pinochet, J. Stanton, J. 1996. El nematodo barrenador del banano *Radopholus similis* Cobb, Francia, Revista Universidad de Puerto Rico.
- Sarah, J. 2000. Burrowing nematode. Wallingford, CABI Publishing.

- Susan, V. Fereres A. 2005. CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES DE LOS CULTIVOS, Madrid, España, Centro de Ciencias Medioambientales (CCMA-CSIC).
- Guía Uso y manejo de *Paecilomyces lilacinus* para el control de nematodos. (2009, Junio).Recuperado de: [file:///C:/Users/usuario/Downloads/Guia%20Uso%20y%20manejo%20paecilomyces%20ES%20\(5\).pdf](file:///C:/Users/usuario/Downloads/Guia%20Uso%20y%20manejo%20paecilomyces%20ES%20(5).pdf)
- Valencia, R. Guzmán, O. Villegas, B. Zapata, J. (2014, diciembre). MANEJO INTEGRADO DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS EN ALMÁCIGOS DE PLÁTANO DOMINICO HARTÓN (*Musa* AAB SIMMONDS). Luna Azul, Volumen 39, pp.165-185.
- Vargas, R. Wang, A. Obregón, M. Araya, M. (2015, Abril 15). Efecto de *Trichoderma* spp., *Paecilomyces lilacinus* y la inyección de nematicida en el pseudotallo en el combate de *Radopholus similis* y la producción de banano. Agronomía Costarricense, volumen 39(2), pp. 61-76.

Anexos

Fotografía 5 : Presentación del proyecto a los productores del corregimiento Buenos Aires.

Fotografía 6: Capacitación a los productores de los diferentes corregimientos Santa Rita, Santa Inés, Buenos Aires, San José, Tapartó, San Bartolo y la Chaparrala, y beneficiarios del programa “Una hectárea para la vida, una hectárea para la paz” que asistieron a las instalaciones de la Universidad de Antioquia Seccional Suroeste, donde se abordaron los cuatro módulos educativos frente a esta problemática.

Fotografía 7: Preparación del medio de cultivo, suspensión de esporas y sembrado.

Fotografía 8: Desarrollo del hongo en medio de cultivo luego de la replicación.

Fotografía 5: Se incorpora el arroz, el agua destilada y el ácido láctico en las bolsas de polipropileno, se sellan con cinta y se llevan al autoclave.

Fotografía 6: Se prepara la concentración de la suspensión a base del hongo *P. lilacinus*, para luego adicionarla al arroz, incubarla y esperar unos días para ver el crecimiento de micelio.

Ilustración7: Repartición del bioformulado y apoyo en dudas de los productores.

Ilustración 8: Entrega del bioformulado a los productores el último día de la capacitación.