

ESTUDIO DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS COMO CONTROLADORES BIOLÓGICOS PARA EL CARBÓN DEL MANÍ

Valetti L.^{1,2}, Paredes J. A.^{1,2}, Monguillot J.^{2,1}, Perez A.¹, Posada G.A.², Guzzo M.C.³, Monteoliva M.³, Rago A.^{4,5}
1- IPAVE-CIAP-INTA 2- UFYMA-CONICET 3- IFRGV-CIAP-INTA, UDEA-CONICET 4- CIAP-INTA 5- FAV UNRC
valetti.lucio@inta.gob.ar

Introducción

El maní es considerado una importante leguminosa a nivel mundial, siendo Argentina el principal país exportador de maní manufacturado de alta calidad y principal proveedor de la Unión Europea, concentrándose el 90 de la producción en la Provincia de Córdoba. Una de las principales limitantes sanitarias para el cultivo de maní en Argentina, es el carbón del maní, enfermedad causada por el hongo *Thecaphora frezii*. Desde su primer reporte, la prevalencia del carbón ha ido aumentando paulatinamente en las zonas maniseras hasta alcanzar un 100% en 2012 reducciones potenciales de más de 35% del rendimiento en lotes altamente infestados (Paredes, 2017). Diversos abordajes tendientes a desarrollar estrategias para el control de la enfermedad implican el uso combinado de fungicidas con principios activos conocidos, el ajuste de dosis y momentos de aplicación, la utilización de distintos microorganismos biocontroladores y la búsqueda e identificación de genes o genotipos con resistencia a carbón (Rago et al., 2017). Por otro lado, el incremento continuo en el uso de fungicidas contribuye a la contaminación en suelo y agua, produciendo un efecto adverso sobre la calidad de los alimentos y la salud humana. Sumado a esto, el uso excesivo de los mismos, favorece la selección de patógenos resistentes, disminuyendo la eficiencia de los fungicidas a través del tiempo. En este contexto, surge la necesidad de buscar alternativas de manejo que incluyan el uso de biocontroladores de bajo impacto ambiental, contribuyendo así al desarrollo de una agricultura sustentable. Los microorganismos que interactúan con las plantas, tanto hongos como bacterias, pueden proporcionar varios beneficios incluyendo la protección contra patógenos. Esto se puede lograr mediante diversos mecanismos entre los que se encuentran: a) competencia directa por el espacio o por los nutrientes, b) producción de metabolitos antibióticos, c) parasitismo directo sobre los hongos fitopatógenos y d) inducción de resistencia sistémica (Sharma et al., 2012). Teniendo en cuenta el efecto antagonístico de algunos microorganismos como las bacterias endófitas (Monteoliva et al., 2022) o el hongo *Trichoderma* sp. (Valetti et al., 2022), desde el IPAVE se propone desarrollar bioformulados a partir de dichos microorganismos para su utilización como controladores biológicos constituyendo una alternativa sustentable, de bajo costo ambiental y económicamente viable.

Materiales y Métodos

Se realizaron aislamientos de bacterias endófitas de hoja, raíz y nódulo de plantas de maní provenientes de distintos sitios de la región productora. Además, se evaluaron 15 aislamientos de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. pertenecientes a la colección IPAVE-CIAP-INTA. El efecto antagonístico *in vitro* se evaluó a partir de cultivos duales enfrentando el biocontrolador al patógeno en placas de Petri conteniendo medio PDA, calculando el porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) (Thi Thanh, et al., 2014). Los aislamientos que mostraron tener un efecto antagonístico *in vitro* fueron seleccionados para ser evaluados en maceta. Para ello, semillas estériles de la variedad Granoleico pregerminadas fueron sembradas en macetas de 8 L con 1×10^4 esporas/g de suelo de *T. frezii*. Las aplicaciones de los microorganismos consistieron en 4 ml/maceta de una solución de conidios (1×10^7 conidios/ml) o cultivo bacteriano (D.O.₆₂₀=1) por aspersión en tres momentos diferentes: a) siembra, b) floración y c) clavado. Al momento de la cosecha se determinó la incidencia (INC), índice de severidad (IS) y se calculó la eficiencia de control (EF) según (Paredes, 2017). Los parámetros de crecimiento vegetal medidos fueron peso seco aéreo (PSA), número de frutos/planta (NF), peso de frutos/planta (PS) y peso de granos/planta (PG). Para evaluar el desempeño a campo de los aislamientos de *Trichoderma* sp. se llevó a cabo un experimento en dos sitios durante dos temporadas de crecimiento. En el ciclo vegetativo 2020/2021, los ensayos se realizaron en Santa Eufemia y durante la temporada 2021/2022, se realizaron en Oncativo y en General Deheza. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques aleatorizados con cuatro repeticiones. Las parcelas consistieron en cuatro surcos a 0,7 m y 8 m de largo. Se aplicó fungicida (Triadimenol 30% + Miclobutanil 20% p/v SC) por la noche, como control químico. La primera aplicación se realizó en el inicio del clavado y la segunda 15 días después utilizando una mochila de gas carbónico. Cada tratamiento con *Trichoderma* consistió en 4 L/ha de un inoculante con 1×10^8 esporas/ml aplicado en el surco por chorreado o en floración por aspersión como se describió anteriormente. En la cosecha se analizó el rendimiento de vaina y semilla de las plantas obtenidas en 1m². En todos los ensayos descriptos se determinó severidad y porcentaje de eficiencia mediante una escala diagramática en 5 niveles, donde, 0: vainas sanas; 1: semilla con pequeño soro; 2: vaina normal o deforme con la mitad de un grano afectado; 3: vaina deforme y un grano completamente afectado; 4: vaina deforme, dos granos completamente afectados (Astiz Gasso et al., 2008). Los resultados obtenidos *in vitro* fueron analizados mediante ANAVA y comparación de medias según el test estadístico DGC ($p < 0,05$). Los ensayos en maceta y a campo según análisis de modelos lineales generales y mixtos utilizando el test de comparación de medias de LSD ($p < 0,05$) con el tratamiento como factor fijo y bloque como factor aleatorio.

Resultados

Se obtuvieron 190 aislamientos endófitos de maní que están siendo evaluados *in vitro* en su capacidad antagónica contra *T. frezii*. Además, se evaluaron 15 aislamientos endófitos de garbanzo biocontroladores y 15 aislamientos de *Trichoderma* sp. pertenecientes a la colección IPAVE. A partir de los resultados obtenidos hasta el momento, se seleccionaron 6 aislamientos endófitos bacterianos y 4 cepas de *Trichoderma* que fueron evaluadas en distintos ensayos en maceta. Los resultados mostraron que las bacterias endófitas NKG50 y O6 fueron capaces de disminuir significativamente la incidencia de la enfermedad alcanzando valores en la eficiencia de control del 45 y 35% respectivamente (Fig. 1). Dichos aislamientos serán evaluados a campo en la próxima campaña. Con respecto a *Trichoderma*, los aislamientos RN33 y LR28 mostraron respuestas estadísticamente significativas en todos los parámetros evaluados de la enfermedad obteniendo una eficiencia de control del 22,7% y 32% y una disminución en la incidencia registrando un 39,4% y 33% respectivamente mientras que en el control sin inocular fue del 58%. Todos los aislamientos de *Trichoderma* fueron evaluados a campo. Durante la campaña 2021 en dos sitios de la localidad de Santa Eufemia, se observó una disminución significativa de la incidencia de la enfermedad en respuesta a la inoculación con las cepas LR28 y RN34, alcanzando valores de eficiencia de control mayores al 35%, Con la misma significancia estadística que el testigo químico ($P < 0,05$) (Fig. 2) en uno de los lotes mientras que en el otro solo la cepa LR28 mostro una respuesta similar al testigo químico alcanzando un 22% en la eficiencia de control, aunque ambas mostraron reducción significativa de la incidencia.

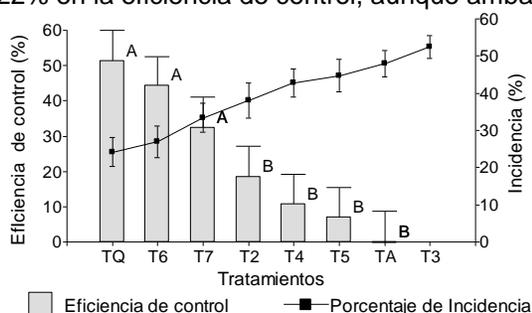


Figura 1. Incidencia y Eficiencia de control en ensayos en maceta aplicando cepas de *Bacillus* sp. TA: Testigo absoluto; T2: CH5; T3: RKG12; T4: RFG14; T5: HKG45; T6: NKG50; T7: O6; y TQ: Testigo químico. Los datos representan la media \pm E.E. de 10 repeticiones. Letras diferentes representan diferencias significativas según análisis de modelos lineales generales y mixtos utilizando el test de comparación de medias de DGC ($p < 0,05$).

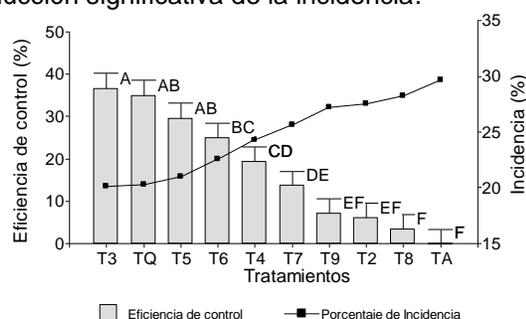


Figura 2. Incidencia y Eficiencia de control en ensayos a campo aplicando cepas de *Trichoderma* sp en el momento de la siembra o floración. TA: Testigo absoluto; T2: RN33 a la siembra; T3: LR28 a la siembra; T4: RN19 a la siembra; T5: RN34 a la siembra; T6: RN33 en floración; T7: LR28 en floración; T8: RN19 en floración; T9: RN34 en floración; y TQ: Testigo químico. Los datos representan la media \pm E.E. de 4 repeticiones de un solo lote. Letras diferentes representan diferencias significativas según análisis de modelos lineales generales y mixtos utilizando el test de comparación de medias de LSD ($p < 0,05$).

Conclusiones

Los aislamientos de *Trichoderma* sp. LR-28 y RN-34, y las bacterias endófitas NKG50 y O6 constituirían potenciales agentes de biocontrol contra el carbón del maní. El conjunto de los resultados obtenidos nos motiva a continuar profundizando los ensayos controlados y a campo con las cepas de interés. Se contempla la posibilidad de evaluar el efecto de inoculaciones mixtas con el objetivo de mitigar los efectos de la enfermedad y mejorar el crecimiento de la planta lo cual podría aumentar los rendimientos del cultivo de manera sustentable.

Bibliografía

Astiz Gasso et al. (2008) Primer CAF. Paredes (2017). Tesis de maestría. UNRC. Fac. de Agr. y Vet. 87pp. Rago, et al. (2017) Plant disease, 101(3), 400-408. Monteoliva et al. (2022) In Legumes Research - Volume 1. IntechOpen. Sharma et al. (2012) Inter J Innov in Bio-Sci, 2(4), 200-210. Thi Thanh, et al. (2014) World Journal of Agricultural Research, 2(6), 291-295. Valetti et al. (2022) Eur J Plant Pathol 163:923-935