

Capítulo 6. Aproximación al control del moho gris en el cultivo de uchuva

Yimmy Alexander Zapata Narváez, Andrés Díaz García,

Camilo Rubén Beltrán Acosta

Introducción

El moho gris, enfermedad producida por el hongo *B. cinerea*, ha afectado cultivos de frutales, hortalizas u ornamentales en campo, en más de 250 especies vegetales (Grant Downton et al., 2014); esto lo convierte en uno de los patógenos de mayor impacto económico a nivel mundial (Dean et al., 2012). Sin embargo, uno de los aspectos más complejos para el manejo del moho gris es el establecimiento del hongo en los diferentes órganos vegetales, particularmente en las estructuras florales, en las cuales puede permanecer en un estado quiescente si las condiciones no son óptimas para su desarrollo. Por tanto, muchos frutos infectados son asintomáticos en el momento de su cosecha, y esto produce la enfermedad durante la poscosecha (Mason & Dennis, 1978).

En este contexto, el control del moho gris en campo es un factor crítico en cultivos como el de la uchuva, ya que las pérdidas están asociadas a procesos poscosecha durante la exportación que, dependiendo del mercado, requieren tiempos largos de transporte, por lo que es necesario asegurar la calidad sanitaria e inocuidad del fruto.

El productor de uchuva en Colombia cuenta con diferentes herramientas de manejo para mitigar el impacto del moho gris; por ejemplo, el manejo cultural mediante la eliminación de restos de material vegetal, podas adecuadas y una correcta densidad de siembra y tutorado para facilitar la ventilación de las plantas; asimismo, el control biológico mediante la aplicación de bioproductos, cuyo ingrediente activo son microorganismos benéficos que presentan diferentes mecanismos de acción que



incluyen la colonización foliar y la inhibición del patógeno mediante la producción de metabolitos antifúngicos, parasitismo o estimulación de respuestas de defensa y el control químico mediante el uso racional de fungicidas químicos, procurando no generar resistencia del patógeno a estos y residualidad en la fruta.

Sin embargo, en Colombia no existen esquemas de manejo de *B. cinerea* en uchuva que repercutan en su poscosecha; por lo tanto, en la ejecución de este proyecto, se evaluó la eficacia de los bioinsumos Tricotec® WG, Nalev WG y Natibac® SC, desarrollados por AGROSAVIA en el control del moho gris, con el propósito de generar estrategias de manejo integrado de la enfermedad.

Establecimiento de una línea base para determinar la incidencia del moho gris en frutos a partir de infecciones quiescentes de B. cinerea

Para determinar el porcentaje de fruta que puede afectar *B. cinerea* durante la poscosecha, se planteó construir una línea base. Para esto, se tomaron muestras de 100 frutos maduros con capacho de aspecto sano (ausencia de signos o síntomas de algún tipo de patología) de cuatro cultivos ubicados en Cundinamarca: uno en el municipio de Ubaté (vereda La Patera), otro en Sutatausa (vereda Hato viejo) y dos en el municipio de Granada (vereda La Veintidós sector alto y La Veintidós sector bajo), empacando los frutos en bolsas de papel y transportándolos en neveras de poliestireno expandido para su posterior análisis en el Laboratorio de Microbiología Agrícola del Centro de Investigación Tibaitatá de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

En laboratorio, los frutos por cultivo se colocaron dentro de copas plásticas de 1,7 onzas y estas se dispusieron en recipientes plásticos sellados de 14,5 x 24 x 36,5 cm (15 copas por cada caja), simulando cámaras húmedas (humedad relativa $\geq 90\%$). Estas últimas se almacenaron en un cuarto de bioensayo a 22°C durante siete días (figura 6.1); después de este tiempo, se registró la incidencia de moho gris,



así como de otras patologías relacionadas con el deterioro de la fruta durante la poscosecha. El porcentaje de incidencia se calculó empleando la siguiente fórmula: porcentaje de incidencia = (frutos con moho gris / frutos totales) *100. Los datos se examinaron mediante un análisis de varianza y las medias por medio de una prueba LSD de Fisher ($P>0,05$), empleando el software Statistix 10.0.



Figura 6.1. Cámaras húmedas con frutos cosechados a. Frutos en copas plásticas; b. Frutos en recipientes plásticos.

Foto: Yimmy Alexander Zapata Narváez

Resultados y discusión

En todos los cultivos muestreados, la incidencia del moho gris fue alta, pues presentó valores entre el 88 % y el 100 %; además, se observó, de forma simultánea, incidencia de moho blanco producido por *S. sclerotiorum* con valores del 40 % al 76 % (figura 6.2).



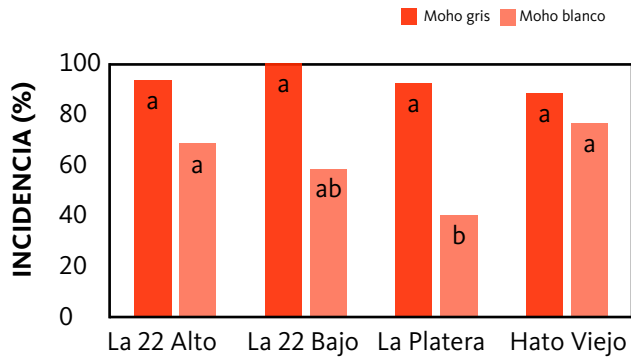


Figura 6.2. Incidencia del moho gris y del moho blanco en frutos de uchuva cosechados en cultivos de los diferentes municipios de Cundinamarca.

Nota: Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Fisher LSD (significancia del 5%).

Fuente: Elaboración propia

Las condiciones en las que se almacenaron las cámaras húmedas favorecieron la expresión de enfermedades que posiblemente afecten la poscosecha y las cuales permitieron determinar el porcentaje de fruta que puede ser afectada. También se demostró la susceptibilidad del fruto de uchuva a las infecciones quiescentes de *B. cinerea* (figuras 6.3 y 6.4). Sin embargo, en condiciones comerciales, la incidencia del moho gris u otras patologías no alcanza estos porcentajes, dado que la fruta usualmente pasa por un proceso poscosecha de secado de capacho, en el cual su humedad se reduce mediante el paso de aire a temperaturas entre 18°C y 25°C por periodos de hasta 36 horas. Esto disminuye la germinación de infecciones quiescentes, pero que no las elimina totalmente, pues algunas se manifiestan durante el transporte de la fruta, lo que provoca pérdidas y el rechazo hacia la fruta (Ávila et al., 2006; Novoa et al., 2006).



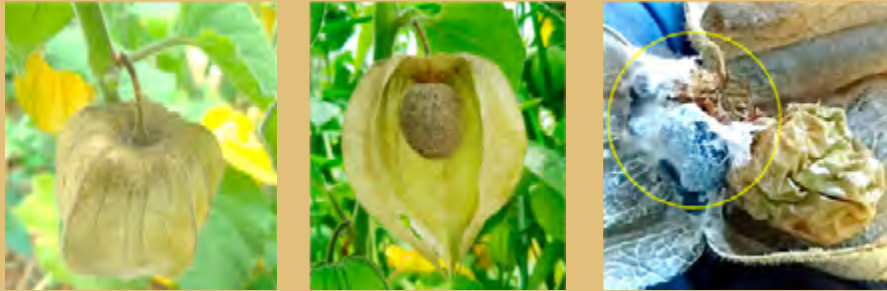


Figura 6.3. Frutos de uchuva con síntomas de infecciones quiescentes. a y b. Síntomas de moho gris en campo; c. Fruto con esclerocio de *S. sclerotiorum*.
Fotos: Yimmy Alexander Zapata Narváez

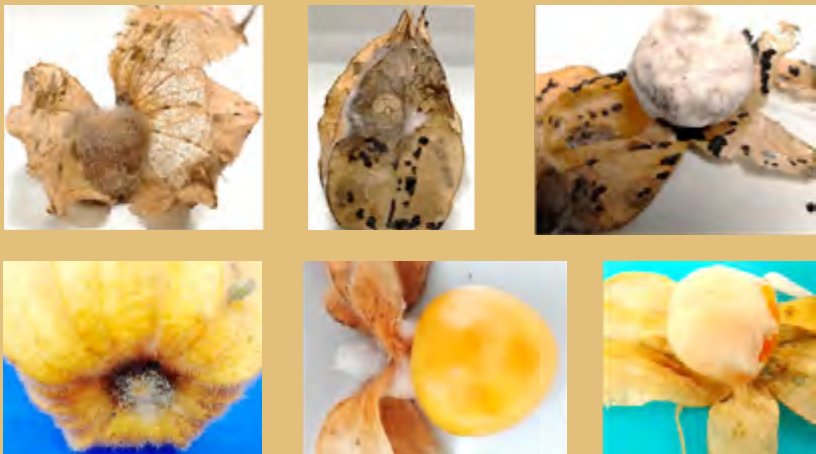


Figura 6.4. Signos de moho gris en frutos de uchuva siete días después de su incubación en cámaras húmedas.
Foto: Yimmy Alexander Zapata Narváez



Evaluación de alternativas para el control de *B. cinerea* en campo

Se estableció una parcela experimental con 220 plantas de la variedad Corpoica Dorada (Sánchez Betancourt et al., 2016) en un predio de la vereda La Veintidós sector alto, del municipio de Granada (Cundinamarca) a 1.800 m s. n. m. En la etapa de semillero, se aplicó el inoculante biológico Natibac® SC (*B. amyloliquefaciens* Bs006) a una concentración de 1×10^8 UFC / mL, y en campo se aplicó en *drench* en la siembra, siete y quince días después de esta, como estrategia para promover el crecimiento de las plántulas y la tolerancia al estrés biótico y abiótico (Beltrán-Acosta et al., 2022). La fertilización química se realizó siguiendo un esquema establecido de acuerdo con el análisis químico del suelo.

Además, se evaluaron cinco tratamientos (tabla 6.1), seleccionados por sus antecedentes en el control de *B. cinerea*; estos se aplicaron foliarmente por medio de aspersión, empleando bombas de espalda después de que las plantas empezaran a producir fruta (aproximadamente seis meses después de la siembra).

Tabla 6.1. Tratamientos evaluados para el control del moho gris

Tratamiento	Dosis y concentración de aplicación
Tricotec WG (<i>Trichoderma koningiopsis</i> Th003)	1 g / L - 1×10^6 conidios / mL
Nalev WG (<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> Lv316)	2 g / L - 1×10^7 células / mL
Natibac SC (<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> Bs006)	50 mL / L - 1×10^8 UFC / mL
Bioestimulante con oligosacarinas y glutatión	1 mL / L
Extracto de <i>Swinglea glutinosa</i>	1.5 mL / L
Fungicida con ingrediente activo Azoxystrobin y difenoconazol	1.5 mL / L
fungicida con ingrediente activo pirimetanil	2 mL / L

Nota: Se presentan los ingredientes activos de productos comerciales

Fuente: Elaboración propia



Se hicieron cinco aplicaciones con una frecuencia de 15 días y después de la tercera aplicación, una semana después de cada repetición por tratamiento, se tomaron 30 frutos maduros; se empacaron en bolsas de papel y se transportaron en neveras de poliestireno expandido para su análisis en el laboratorio. En dicho análisis, por repetición se tomaron 15 frutos con capacho y se ubicaron en una cámara húmeda en las condiciones anteriormente mencionadas durante siete días; también se tomaron 15 frutos, a los que se les retiró el capacho y se pusieron en bolsas de papel.

El bioensayo se estableció a partir de un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. La unidad experimental consistió en dos surcos de cinco plantas cada uno para un total de diez plantas por unidad experimental y un total de 30 plantas por tratamiento, separando los tratamientos por un surco de plantas sin tratar; como control, se tomó la fruta de un cultivo cercano sembrado al mismo tiempo, bajo las mismas condiciones y la misma variedad vegetal, sin aplicaciones de productos para el control de enfermedades foliares. La variable evaluada fue la incidencia del moho gris. Por tratamiento se totalizaron los frutos sanos y enfermos, y se determinó el porcentaje de incidencia utilizando la fórmula mencionada anteriormente. Los datos se examinaron mediante un análisis de varianza y las medias mediante una prueba LSD de Fisher (significancia del 5%) empleando el software Statistix 10.0. La eficacia en el control del moho gris se calculó utilizando la fórmula de Abbott: porcentaje de eficacia= $((Cd - Td)/Cd) * 100$, donde Cd = incidencia en el control y Td= incidencia por tratamiento (Asociación Nacional de Empresarios de Colombia [ANDI] e Instituto Colombiano Agropecuario [ICA], 2015).

Adicionalmente, en el último muestreo de cada tratamiento se cosecharon aproximadamente 800 g de fruta, asegurándose de formar una muestra compuesta representativa de acuerdo con el protocolo de selección de muestra establecido por el laboratorio Primoris, y a las cuales se les realizó el análisis de residualidad de plaguicidas mediante cromatografía líquida y espectrofotometría de masas



(LC-MS); esto, con el fin de comparar, aparte de la eficacia en el control del moho gris, su efecto en la residualidad de fungicidas en la fruta.

Las primeras semanas durante las cuales se inició la cosecha se presentó un periodo de lluvias que pudo influir en la incidencia del moho gris; en este tiempo, se observaron los mayores valores de incidencia de la enfermedad en todos los tratamientos. A diferencia del control, con una incidencia media del 83 %, en todos los tratamientos la incidencia disminuyó con el tiempo, y se evidenció algún nivel de control de la enfermedad; se destacan las aplicaciones de Tricotec® WG y Nalev® WG, que presentaron una incidencia entre el 48 % y 51 %, respectivamente. Sin embargo, el tratamiento químico con una incidencia media del 55 % presentó al final de la evaluación la menor incidencia de la enfermedad, con un 10 % (figura 6.5).

La mayor eficacia en el control del moho gris se dio con las aplicaciones de Tricotec® WG y Nalev® WG, con un 42 % y un 39 %, respectivamente; no obstante, con un 34 %, el tratamiento con Oligosacarinas y glutatión (OG) mostró un buen comportamiento, lo cual plantea la posibilidad de integrar estos extractos en estrategias de manejo de la enfermedad (figura 6.6).

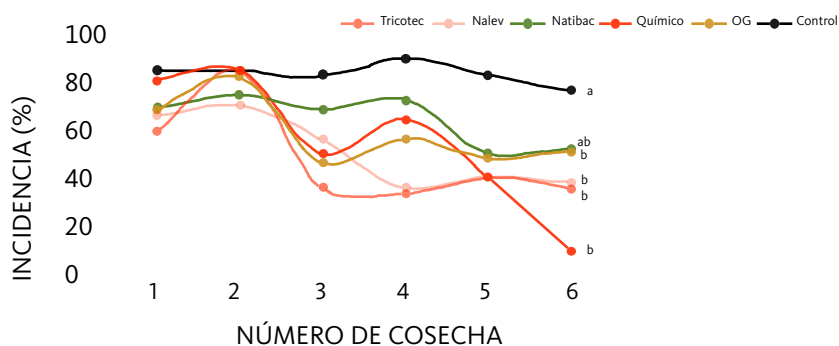


Figura 6.5. Incidencia semanal del moho gris en la fruta cosechada por tratamiento. Nota: Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Fisher LSD (significancia del 5%).

Fuente: Elaboración propia



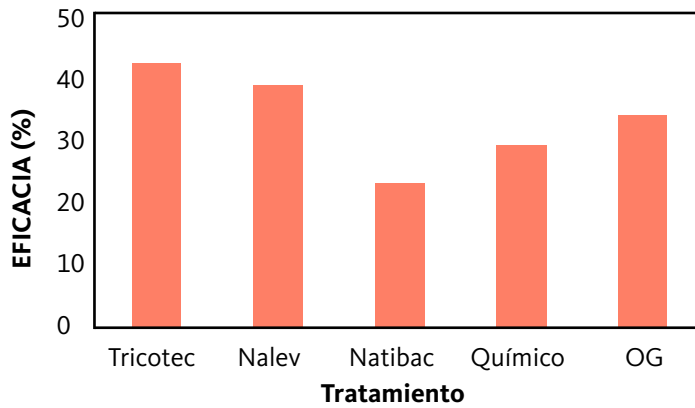


Figura 6.6. Eficacia de los tratamientos para el control del moho gris en frutos de uchuva después de 75 días de evaluación.
Fuente: Elaboración propia

Respecto a la incidencia del moho gris en los frutos sin capacho, solo se presentó la enfermedad en los tratamientos biológicos, lo que corresponde al 1,4% de un fruto afectado durante todo el periodo de evaluación (figura 6.7).

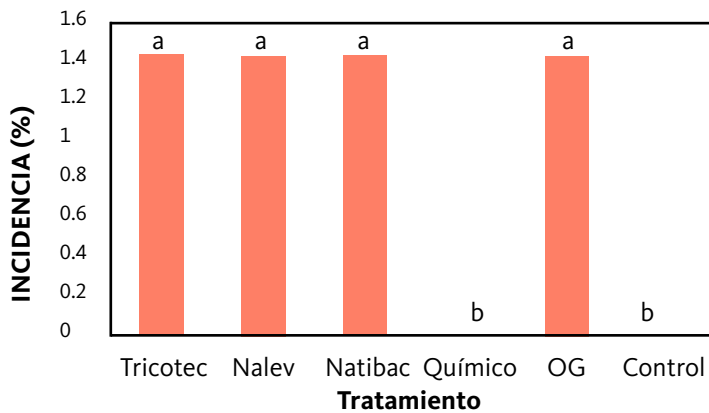


Figura 6.7. Incidencia del moho gris por tratamiento en los frutos de uchuva sin capacho.

Nota: Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Fisher LSD (significancia del 5%).

Fuente: Elaboración propia



Al retirar el capacho de la fruta previo a su almacenamiento, la incidencia del moho gris no superó el 2%; es probable que las infecciones quiescentes de *B. cinerea* o de *S. sclerotiorum*, en su mayoría, se produzcan en el capacho y de este el patógeno, debido a su desarrollo, pasa al fruto. El capacho es una estructura que protege al fruto del ambiente, incluyendo patógenos, pero con su senescencia y en un ambiente con una alta humedad relativa las infecciones quiescentes se activan y los patógenos se desarrollan y deterioran el fruto.

Todos los tratamientos redujeron la incidencia del moho gris, pero se destacan las aplicaciones de Tricotec® WG y Nalev®, que dieron resultados similares a los reportados con el cultivo de mora, en el cual la aplicación de los bioplaguicidas cada 15 días presentó una eficacia del 60 %, cifra superior a la que se obtuvo con procloraz (58 %) o carbendazim (27 %) (Zapata Narvárez & Cotes, 2013). *B. cinerea* es un patógeno susceptible a la ausencia de nutrientes, factor que limita la germinación de conidios, la formación del tubo germinal y la infección (Elad, 1996). Así, la aplicación de *T. koningiopsis* y *R. mucilaginosa*, que dentro de sus modos de acción presentan la competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo y antibiosis, pudo reducir la infección de *B. cinerea* en el capacho (Freimoser et al., 2019; Moreno Velandia et al., 2020).

En cuanto a la rotación en cuanto a la rotación de insumos con ingredientes activos de Oligosacarinas y glutatión y extracto de *S. glutinosa*, con una eficacia del 34 %, esta mostró ser una alternativa para incluir en el manejo de la enfermedad; un ejemplo de esto fue la reducción del 65 % en la incidencia del moho gris que se presentó al alternar sus aplicaciones con Tricotec® WG en el cultivo de mora (Zapata Narvárez & Beltrán-Acosta et al., 2019) o en el control del mildew velloso en mora, en rotación con bioplaguicidas a base de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*, un extracto de semillas de cítricos y fungicidas a base de cobre (Boyzo-Marín et al., 2015). El bioestimulante que contiene oligosacarinas y glutatión, moléculas



que actúan como elicitores asociados a la estimulación de respuestas de defensa (Enríquez-Guevara et al., 2010).

Respecto al control químico, usualmente este es la primera alternativa para tener presente, ya que cuenta con un alto nivel de control; no obstante, su efectividad a largo plazo dependerá de una adecuada rotación de principios activos, considerando grupo químico, mecanismos de acción y residualidad. Es importante pensar no solo en reducir el riesgo de aparición de cepas de *B. cinerea* resistentes o multirresistentes a los fungicidas utilizados (Weber, 2011; Amiri et al., 2013; FRAC, 2019), sino también en la residualidad de estos en la fruta, ya que a pesar de haber realizado la aplicación de Azoxystrobin y difenoconazol más de 30 días antes de la cosecha de la fruta para los estudios de residualidad, se encontraron trazas de difenoconazol, y de Pirimetanil, principio activo de uno de los fungicidas empleados. Sin embargo, este último se aplicó una semana antes de la cosecha de la fruta, pero de acuerdo con el Codex Alimentarius se ajustan a los límites máximos de residuos para *berries* (tabla 6.2).

Tabla 6.2. Residuos de plaguicidas obtenidos en la fruta cosechada por tratamiento

Tratamiento	Molécula encontrada	mg/Kg	Tolerancia mg/Kg
Tricotec WG	-----	-----	-----
Nalev WG	-----	-----	-----
Natibac	-----	-----	-----
ECO	-----	-----	-----
Químico	Difenoconazol Pirimetanil	0,020 0,019	0,01 0,01

Fuente: Elaboración propia



Dinámica de las poblaciones de antagonistas en la filosfera

A partir de la segunda aplicación de los tratamientos y previo a su aspersión, de cada repetición se tomaron diez hojas, las cuales se empacaron en bolsas de papel y se transportaron en una nevera de poliestireno expandido para su análisis en el laboratorio. Después se cortaron las hojas en trozos de 1 cm de diámetro utilizando un sacabocado de acero inoxidable estéril, se tomaron 10 g y se dispusieron en Erlenmeyers con 90 mL de Tween 80 al 0,1% (suspensión madre), y se dejaron en agitación constante a 150 rpm durante una hora. Luego, se realizó una dilución 1 en 10, agitándolas en un agitador vórtex y de estas se tomaron 100 μ L y se dispusieron en cajas Petri (tres cajas por dilución), las cuales contenían agar rosa de bengala para *T. koningiopsis* Th003, agar extracto de malta para *R. mucilaginoso* Lv316 y agar Luria Bertani para *B. amyloliquefaciens* Bs006, respectivamente; además, se distribuyeron homogéneamente con un rastrillo de acero inoxidable. Las cajas se incubaron a 28°C durante 48 horas para la bacteria y a 25°C para la levadura y el hongo durante 48 horas y 5 días, respectivamente. Después de este tiempo se contaron las unidades formadoras de colonia (UFC) y los resultados fueron reportados como UFC/g de foliolo expresado como Log (UFC/g).

Las poblaciones de los antagonistas en la filosfera permanecieron constantes entre aplicaciones. Para *T. koningiopsis* Th003, se obtuvieron recuentos de 1×10^3 UFC/g, con una reducción aproximada de tres exponentes entre aplicaciones, mientras que para *R. mucilaginoso* Lv316 y *B. amyloliquefaciens* Bs006 los recuentos estuvieron en el orden de 1×10^5 UFC/g, con una reducción aproximada de dos exponentes (figura 6.8).



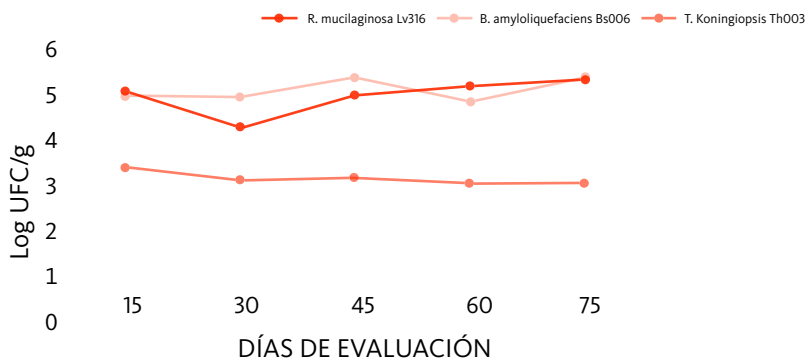


Figura 6.8. Dinámica de la población de los antagonistas principio activo de los bioplaguicidas durante el periodo de evaluación.

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo con las concentraciones recuperadas entre muestreos, se puede establecer que los antagonistas se adaptaron y colonizaron la filosfera. Es necesario tener en cuenta que al introducir microorganismos a un ambiente, y particularmente a la filosfera, una parte del inóculo prospera a pesar del estrés biótico o abiótico producido, entre otros, por productos usados para la fitoprotección, la competencia por espacio y los nutrientes con microorganismos nativos, la temperatura, la humedad o la radiación solar; sin embargo, después de un periodo de adaptación la población establecida se mantuvo, pero para que estas poblaciones ejerzan una actividad de control más significativa es necesario aumentar sus poblaciones en el tiempo (Andrews, 1992; Andrews & Harris, 2000).

En el caso particular de los agentes de control biológico, su permanencia en la filosfera es esencial, dado que si no se adaptan y colonizan no podrán realizar su actividad de control. Para el caso de *T. koningiopsis* Th003, *R. mucilaginosa* Lv316 y *B. amyloliquefaciens* Bs006, los recuentos obtenidos concuerdan con las concentraciones en las que estos microorganismos pueden encontrarse en la filosfera de una gran variedad de plantas (Lindow & Brandl, 2003).



Consideraciones finales

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que la integración del uso de los bioplaguicidas en estrategias de manejo integrado en el cultivo de uchuva surge como una alternativa que contribuye a su sostenibilidad, ya que su alternancia con fungicidas químicos reduciría el número de sus aplicaciones y el número de principios activos utilizados; esto disminuye el riesgo de aparición de morfotipos de *B. cinerea* resistentes o multirresistentes a fungicidas, así como de los residuos de fungicidas en la fruta cosechada. Para esto, por ejemplo, el bioplaguicida *T. koningiopsis* cuenta con registro del ICA para su uso en los cultivos de arándanos, fresa, mora y ornamentales, como rosa para el control de *B. cinerea* y en el cultivo de lechuga para el control de *S. sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*, patógenos relacionados con el cultivo (Moreno et al., 2020) y *R. mucilaginosa* Lv316 se ha evaluado con eficacia en el control de *B. cinerea* en el cultivo de mora y en el cultivo de rosas.







Fotografía: Gabriel D. Roveda

