

CAPÍTULO 5.

EFICACIA DE DOS PROTOTIPOS DE BIOPLAGUICIDA A BASE DE *R. glutinis* CEPA LvCo7 Y UN BIOPLAGUICIDA A BASE DE *T. koningiopsis* CEPA Th003 EN EL CONTROL DE *B. cinerea* EN CULTIVOS DE MORA

Jimmy Alexander Zapata Narváz y Alba Marina Cotes Prado

Resumen

Para evaluar la eficacia en el control de *Botrytis cinerea* en cultivos de mora de dos prototipos de formulación a base de *Rhodotorula glutinis* cepa LvCo7 y de un bioplaguicida a base de *Trichoderma koningiopsis* cepa Th003, se establecieron dos parcelas experimentales en el municipio de Sylvania (Cundinamarca) sembrando plantas del ecotipo Monterrico, obtenidas a partir de vitroplantas. Después de 77 días de evaluación, los prototipos de formulación a base de la levadura y el bioplaguicida a base del mohó mostraron una mayor eficacia para el control de *B. cinerea*, presentando una reducción de la incidencia entre el 69% y el 55%, comparado con los fungicidas Plocloraz, Difenconazol y Carbendazim, con los cuales se observó una reducción de la incidencia del 58%, 46% y 27%, respectivamente.

Introducción

Debido al peligro que representan los residuos de agroquímicos para la salud humana, los consumidores en el mundo están exigiendo que el uso de productos químicos en la producción agrícola sea reducido significativamente.

En este contexto, la producción de mora bajo los esquemas tradicionales afrontaría el serio riesgo de rezagarse y perder terreno frente a la posibilidad de la apertura de nuevos mercados nacionales e internacionales.

Al ser la mora un cultivo de fructificación continua, las aplicaciones de plaguicidas se realizan sin restricciones de uso y sin contar con periodos de carencia, lo que con seguridad implica la presencia de residuos de plaguicidas en la fruta que se comercializa en los diferentes esquemas de mercado.

De acuerdo con esto, se hace necesario el desarrollo de alternativas para el manejo integrado del moho gris, la enfermedad más limitante del cultivo, integrando a los esquemas de control tradicionales el control biológico de *B. cinerea*, permitiendo una producción más limpia y acorde con la tendencia actual del mercado, con un enfoque hacia una agricultura menos agresiva con el medio ambiente e inocua para el consumidor y para el agricultor.

De acuerdo con lo anterior, Corpoica cuenta con dos prototipos de bioplaguicidas a base de la levadura *R. glutinis* cepa LvCo7 y de *T. koningiopsis* cepa Th003, que bajo condiciones controladas presentaron un control del moho gris superior al 70%; sin embargo, aún no se ha evaluado su eficacia bajo condiciones de campo en el cultivo de la mora, siendo ésta una condición primordial y necesaria para poder suministrar a los agricultores un producto con óptimas condiciones de calidad tecnológica y biológica. Por lo tanto, es necesario realizar bioensayos en campo que permitan desarrollar una estrategia de manejo integrado del moho gris y de esta forma generar las recomendaciones para su futura aplicación en condiciones de producción comercial.

Establecimiento de parcelas experimentales

Para evaluar la eficacia de los prototipos de bioplaguicidas a base de *R. glutinis* y de *T. koningiopsis* en el control de *B. cinerea* en condiciones reales, se establecieron dos cultivos de mora a modo de parcelas experimentales en las veredas Agua Bonita y Monterrico del municipio de Sylvania (Cundinamarca).

En cada parcela se sembraron 300 plantas de mora obtenidas a partir de vitroplantas ecotipo Monterrico, previamente evaluadas en la zona y seleccionadas por los productores por presentar altos rendimientos, así como por sus propiedades nutraceuticas (Espinosa *et al.*, 2009). Este material fue proporcionado por el Laboratorio de Micropropagación Vegetal del Centro de Biotecnología y Bioindustria (CBB) de Corpoica.

El endurecimiento de las vitroplantas se realizó en bolsas plásticas de 1 kg con sustrato suelo y cascarilla en proporción 3:1, el cual previamente fue inoculado con el bioplaguicida a base del hongo, mediante la aspersión de una suspensión de 1×10^6 conidios.mL⁻¹ (Beltrán y Cotes, 2009). Cada quince días y durante tres meses se realizaron refuerzos del bioplaguicida a una concentración de 1×10^6 conidios.mL⁻¹ y aplicaciones de un fertilizante foliar Tottal® (solución de microelementos). Una vez las plantas presentaron un tamaño de entre 15 cm y 25 cm, aproximadamente, tres meses después de la siembra fueron trasladadas a las parcelas experimentales para ser trasplantadas (Figura 30).



Figura 30. Endurecimiento en invernadero de vitroplantas de mora ecotipo Monterrico, utilizadas en el establecimiento de las parcelas experimentales en el municipio de Sylvania (Cundinamarca).

Para el establecimiento de las parcelas se seleccionó un lote de propiedad del productor Enrique Rodríguez, en la vereda Monterrico, y un lote propiedad del productor Juan Carlos Aguirre, en la vereda Agua Bonita (Figura 31).



Figura 31. A y B. Lote del productor Juan Carlos Aguirre, en el que se cultivó mora cinco años antes del montaje del ensayo y se encontraba sin uso. El terreno es pendiente y apropiado para el cultivo de mora, con un suelo franco limoso y franco arcilloso. C y D. Lote del productor Enrique Rodríguez, en el que nunca se había cultivado mora y se utilizaba para el pastoreo de ganado. El terreno es pendiente y apropiado para el cultivo de mora; sin embargo, tiene un suelo arcilloso por lo cual fue necesaria la incorporación de materia orgánica.

El acondicionamiento del suelo antes de la siembra consistió en el plateo, la remoción de malezas, el hoyado en el sitios de siembra con distancias de siembra de 2,5 m entre plantas y de 3 m entre surcos, y el encalado quince días antes de la siembra.

Las plantas fueron llevadas a campo una semana antes del trasplante, con el fin de aclimatarlas. Al momento de la siembra se realizó una mezcla

de fertilizantes orgánicos (gallinaza compostada y lombricompost), la cual se distribuyó en cada uno de los hoyos de siembra. Posteriormente se sembraron las plantas y se aplicó el bioplaguicida a base del *T. koningiopsis* en drench, tanto a la planta como al suelo, a una concentración de 1×10^7 conidios.mL⁻¹. Dos días después de la siembra se aplicó al suelo circundante de cada planta una solución del fertilizante 15-15-15 (N-P-K).

Después del seguimiento de las parcelas durante dos meses, no murieron las plantas, sino que se adaptaron a las condiciones y desarrollaron rebrotes (Figura 32).



Figura 32. Plantas de mora después de un mes de su siembra en las parcelas experimentales A. Agua Bonita. B. Monterrico.

El esquema de fertilización se estableció de acuerdo con las recomendaciones generadas a partir del análisis químico del suelo de cada parcela y consistió en una fertilización posterior al ploteo, agregando 150 g de cal dolomita; 20 días después se aplicó alrededor de cada planta una mezcla de los siguientes fertilizantes: urea, 30 g; KCl, 40 g, y Agrimins[®], 30 g. La fertilización foliar consistió en la aplicación del fertilizante Tottal[®]. Este esquema se repitió cada tres meses.



Figura 33. Seguimiento a la parcela experimental en la vereda Agua Bonita.

Una vez las plantas entraron en periodo de fructificación (entre 10 a 12 meses) se estableció su tutorado, el cual consistió en un sistema de doble poste a cada lado del surco de siembra, a una distancia de 75 cm de la base de la planta, repitiéndose cada cuatro m y cada poste con una longitud de 1,60 m desde la base del suelo. Para colgar las plantas se extendió desde los primeros postes, de uno de los extremos del surco al otro extremo, una guaya de acero a la cual se le colgaron con cuerda las plantas; antes de colgarlas se les realizó una poda, dejando de 6 a 8 ramas desde la corona radical, quitándoles, además, las hojas bajas. Este sistema permite abrir la planta, facilitando las labores de poda sanitaria y de formación, así como la recolección de frutos y la reducción de la humedad en la filósfera (Figura 34).



Figura 34. Tutorado de la parcela experimental de la vereda Agua Bonita, del municipio de Silvania (Cundinamarca).

A. EFICACIA DE DOS PROTOTIPOS DE BIOPLAGUICIDAS A BASE DE *R. glutinis* Y DE *T. koningiopsis* EN EL CONTROL DE *B. cinerea* EN CULTIVOS DE MORA

Metodología

En las parcelas experimentales se evaluó la eficacia en el control de *B. cinerea* en cultivos de mora de dos prototipos de bioplaguicida a base de *R. glutinis*. Un prototipo contenía un abrillantador como protector UV, en tanto que el otro no; igualmente se evaluó el bioplaguicida a base de *T. koningiopsis*, planteando los siguientes tratamientos:

- Prototipo F.
- Prototipo FA.
- Bioplaguicida a base de *T. koningiopsis* cepa Th003.
- Químico.

- Productor (Carbendazim, en la parcela Monterrico).
- Testigo absoluto.

Los prototipos de bioplaguicida así como el bioplaguicida a base del hongo se aplicaron a una concentración de 1×10^7 conidios/células. mL^{-1} ; en la parcela Agua Bonita se aplicó el fungicida Procloraz como testigo químico, en tanto que en la parcela Monterrico se aplicó el fungicida Difenconazol, a las dosis recomendadas. La aplicación tanto de los bioplaguicidas como de los fungicidas se realizó cada quince días utilizando fumigadoras de espalda.

El bioensayo se estableció bajo un diseño de bloques completos al azar, con tres repeticiones; la unidad experimental (UE) consistió en dos surcos con cinco plantas cada uno, para un total de 10 plantas por UE, con tres repeticiones, para un total de 30 plantas por tratamiento (Figura 35).



Figura 35. Parcela Agua Bonita. Para facilitar las aplicaciones de los antagonistas, cada tratamiento se marcó con una bandera de color.

La variable evaluada fue la incidencia del moho gris por tratamiento, seleccionando de cada una de las UE tres plantas a las cuales se les contaron los frutos sanos cosechables y los frutos que presentaron signos de moho gris, comprobando que la infección inicial fuese provocada por *B. cinerea* (Figura 36). El registro de los datos se realizó semanalmente. Para cada tratamiento se totalizaron los frutos sanos y enfermos, y se determinó el porcentaje de incidencia utilizando la siguiente fórmula.

$$\text{Incidencia} = \frac{\text{Frutos con moho gris}}{\text{Frutos totales}} \times 100$$

Los resultados obtenidos se estudiaron mediante un análisis de varianza y comparación de medias, usando el test Tukey con α : 0,05.



Figura 36. Característica de los frutos cuantificados para determinar la incidencia de moho gris.

En la parcela Agua Bonita se cuantificó la producción de fruta por tratamiento, dos veces por semana (dos cosechas por semana) y durante cuatro meses, con el fin de determinar la diferencia de la fruta cosechada por tratamiento. Los resultados obtenidos se estudiaron mediante un análisis de varianza y comparación de medias, usando el test Tukey con α : 0,05.

Resultados

La incidencia del moho gris en los testigos absolutos fue en promedio de 8,7% y 15% para las parcelas Agua Bonita y Monterrico, respectivamente; estos valores pueden considerarse bajos, sin embargo, esto repercutió en la cantidad de fruta cosechada, comparada con la cantidad cosechada en los otros tratamientos.

Las aplicaciones de los prototipos de bioplaguicida a base de *R. glutinis* y del bioplaguicida a base de *T. koningiopsis* fueron más eficientes en el control del moho gris, con respecto a los fungicidas utilizados en los tratamientos químicos y productor (Monterrico).

En la parcela Agua Bonita, con las aplicaciones de los prototipos de bioplaguicida se obtuvo una reducción de la incidencia de la enfermedad del 69% con el prototipo F y del 68% con el FA, en tanto que con el bioplaguicida a base del hongo la reducción fue del 65% (Figura 37).

Por otra parte, con las aplicaciones de Procloraz la reducción de la incidencia fue del 58%, y aunque este tratamiento no presentó diferencias

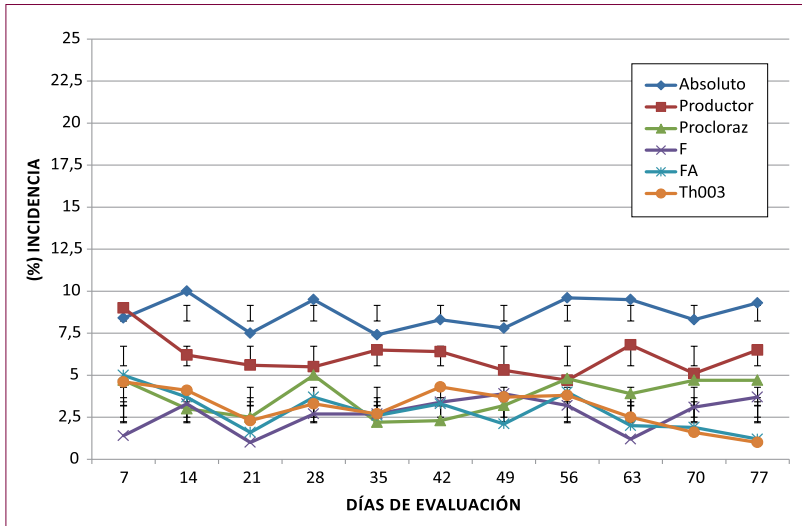


Figura 37. Incidencia de moho gris en cada tratamiento para la parcela Agua Bonita, después de 77 días de evaluación. Las barras representan la desviación estándar. F y FA: prototipos de bioplaguicida a base de *R. glutinis*; Th003: bioplaguicida a base de *T. koningiopsis*. Las barras representan la desviación estándar.

estadísticamente significativas con respecto a los tratamientos biológicos, las diferencias numéricas fueron del orden del 10%.

En cuanto al tratamiento productor, en esta parcela no se aplicaron fungicidas para el control del moho gris; sin embargo, el productor realizó aplicaciones del fungicida Aliette® (Fosetyl Aluminio) con una frecuencia de 30 días para el control de mildew veloso, obteniendo una reducción del moho gris del 30%.

Respecto a la parcela Monterrico se observó nuevamente que la mayor reducción en la incidencia del moho gris se logró con las aplicaciones de los microorganismos biocontroladores, siendo el prototipo F el que presentó mayor control con una reducción de la enfermedad del 65%, seguido del bioplaguicida a base de *T. koningiopsis* con 60% y el prototipo FA con 55% de reducción del moho gris (Figura 38).

En tanto que con el fungicida Difenoconazol (tratamiento químico) se redujo la incidencia en 46% y con Carbendazim (tratamiento productor), en un 27%. Teniendo en cuenta este resultado, es necesario anotar que Carbendazim es uno de los fungicidas utilizados con mayor frecuencia por los productores de la zona y no inhibió el desarrollo del patógeno en las pruebas *in vitro* e *in planta*.

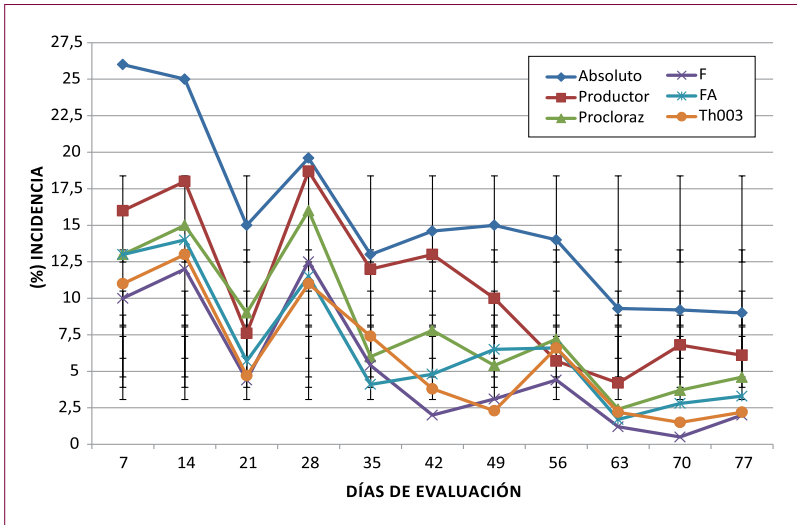


Figura 38. Incidencia de moho gris en cada tratamiento para la parcela Monterrico, después de 77 días de evaluación. F y FA: prototipos de bioplaguicida a base de *R. glutinis*; Th003: bioplaguicida a base de *T. koningiopsis*. Las barras representan la desviación estándar.

Al analizar los datos promedio obtenidos, en la parcela Agua Bonita se presentaron diferencias significativas entre el tratamiento productor y los tratamientos químicos, prototipos de bioplaguicida y bioplaguicida, en tanto que en la parcela Monterrico estas diferencias fueron numéricas (Tabla 13).

Tabla 13. Incidencia promedio de moho gris en las parcelas experimentales. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey (α : 0,05%)

Tratamiento	% Incidencia promedio	
	Agua Bonita	Monterrico
Absoluto	8,69 a	15 a
Productor	6,15 b	11 ab
Químico	3,73 c	8,2 b
Prototipo F	2,69 c	5,2 b
Prototipo FA	2,83 c	6,7 b
Bioplaguicida	3,08 c	6 b

Son pocos los estudios que se han desarrollado para el control de *B. cinerea* en cultivos bajo condiciones comerciales a campo abierto, mediante el uso de microorganismos; sin embargo, resultados similares a los obtenidos en este

trabajo han sido reportados por Cañamas y colaboradores (2011), que al evaluar entre 2005 y 2006 las aplicaciones de la levadura *Candida sake* CPA-1 sin formular y formulada en una solución isotónica para el control del moho gris en vid, redujeron la incidencia de la enfermedad entre 36% y 40%, sin encontrar diferencias significativas entre *C. sake* y los fungicidas convencionalmente utilizados en vid (Mepaniprim, Vinclozolin, Procloraz y Carbendazim).

Por otro lado, respecto a la producción de fruta en la parcela Agua Bonita, la mayor cantidad de fruta cosechada por semana correspondió al tratamiento en el que se aplicó el bioplaguicida a base de *T. koningiopsis*, con un promedio de 5.652 g, presentando diferencias significativas con respecto a los tratamientos productor y absoluto; en tanto que con las aplicaciones de los prototipos de bioplaguicida a base de la levadura la cantidad de fruta cosechada fue de 4.000 g con el prototipo F y 4.341 g para el FA, y con las aplicaciones de Procloraz fue de 4.447 g (Tabla 14).

Aunque entre los tratamientos biológicos y el fungicida no se presentaron diferencias significativas, hay diferencias numéricas principalmente entre el bioplaguicida con los prototipos de bioplaguicida y el fungicida. Es importante resaltar que la producción fue relativamente mayor con el fungicida a base del hongo que con los prototipos a base de la levadura, lo cual puede estar relacionado con la alta incidencia de mildew veloso que se presentó en esta parcela, particularmente en las plantas donde estos fueron aplicados y al control que eventualmente Procloraz pudo tener sobre esta enfermedad.

El uso de los antagonistas y los fungicidas redujo la incidencia del moho gris; en la parcela Agua Bonita se observó una mayor producción de fruta en estos tratamientos; sin embargo, es necesario desarrollar un esquema



Figura 39. Cosecha de fruta.

Tabla 14. Promedio de fruta por cosecha en cada uno de los tratamientos evaluados. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey (α : 0,05%)

Tratamiento	Producción kg promedio por cosecha
	Agua Bonita
Absoluto	3.4b
Productor	3.6b
Plocloraz	4.4ab
Prototipo F	4.0ab
Prototipo FA	4.3ab
Bioplaguicida	5.7a

de aplicación y rotación de acuerdo con las condiciones climáticas (alta humedad, lluvia y temperatura) e incidencia del patógeno, estableciendo un umbral de daño siguiendo las premisas planteadas en el sistema Botman (Shtienberg y Elad, 1997).

Conclusiones

Los prototipos de bioplaguicidas a base de *R. glutinis* LvCo7 y de *T. koningiopsis* Th003 fueron más eficientes en el control de *B. cinerea* que los fungicidas químicos utilizados tanto en el tratamiento testigo como en las parcelas manejadas por los productores.

Referencias bibliográficas

- Beltrán, C. & Cotes A.M. (2009). Promoción de crecimiento en endurecimiento de plántulas de mora producidas *in vitro* (efecto de la aplicación de *Trichoderma koningiopsis* Th003). En: *Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado*. P. 57-63.
- Cañamás, T.; Viñas, I.; Torres, R.; Usall, J.; Solsona, C. & Teixidó, N. (2011). Field Applications of Improved Formulations of *Candida sake* CPA-1 for Control of *Botrytis cinerea* in Grapes. En: *Biological Control* 56 (2011): 150–158.
- Espinosa, N.; Sánchez, D.; García, A.; Ariza, M.; Ariza, C. & Barrero, L. (2009). Evaluación agronómica, nutricional y selección participativa de materiales de mora en Sylvania, Cundinamarca. En: *Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado*. P. 34-42.
- Shtienberg, D. & Elad, Y. (1997). Incorporation of Weather Forecasting in Integrated, Biological-chemical Management of *Botrytis cinerea*. En: *Phytopathology* 87: 332-340.