

# Avances en el control biológico de *Botrytis cinerea* en chile y tomate cultivados bajo techo

Williams Salas Brenes<sup>1</sup>  
Vera Sánchez Garita<sup>2</sup>

**RESUMEN.** Se aislaron hongos con potencial antagonista sobre *Botrytis cinerea*, los cuales fueron evaluados en el laboratorio en cámaras húmedas usando hojas desprendidas. Los mejores antagonistas se evaluaron tanto en invernadero experimental como en invernadero comercial. Los antagonistas 0411 y 1411 (ambos del género *Trichoderma*) mostraron el mejor efecto y consistencia en su control sobre el patógeno; por eso, se les consideró con potencial para el control biológico de *B. cinerea*. Además, se encontró correlación entre la humedad relativa máxima y la humedad relativa mínima con la cantidad de flores infectadas por el patógeno. Esto revela la importancia del manejo del agua dentro del invernadero como medida para el control de enfermedades. Se caracterizó y documentó el manejo de enfermedades de tomate en una finca de producción orgánica. Se realizaron tres siembras del híbrido Montaña Fresca, presentándose como principales enfermedades tizón temprano (*Alternaria solani*) y tizón tardío (*Phytophthora infestans*); ésta última es la más difícil de manejar, con niveles de infección de hasta 100%. Se evaluaron varias opciones de manejo, pero los mejores resultados se obtuvieron con la utilización de extractos de plantas y otros minerales como azufre, ceniza y cobre.

**Palabras clave:** plaguicidas microbianos, antagonistas fúngicos, moho gris, *Phytophthora infestans*, tizón tardío, control de enfermedades, horticultura orgánica.

**ABSTRACT. Biological control of *Botrytis cinerea* on pepper and tomato crops under greenhouse conditions.** We isolated fungi with antagonistic potential over *Botrytis cinerea*, which is one of the most important pathogens in these and other greenhouse plants. The fungi were evaluated in humid chambers by using detached leaves. The best ones were evaluated in an experimental greenhouse and in a commercial one. Antagonists 0411 and 1411 (both belonging to *Trichoderma*) showed the best results and consistency in controlling the pathogen. There was a correlation between the maximum relative humidity and the minimum relative humidity with regard to the amount of flowers infected by the pathogen. This reveals the importance of managing water inside the greenhouse as a way to control these and other diseases. We characterized and documented tomato diseases in an organic production farm. Three sowings of the hybrid Montaña Fresca were carried out. The main diseases presented in these cases were early blight (*Alternaria solani*) and late blight (*Phytophthora infestans*); the latter was the most difficult to control, as it presented infection levels that reached 100%. Several control alternatives were evaluated, but the best results were obtained when using extracts from plants and other minerals such as sulfur, ashes and copper. Cultural practices such as cutting parts of plants, foliar drying with air, cultivation under a plastic cover and irrigation management provided good results, also.

**Keywords:** microbial pesticides, fungal antagonists, grey mould, *Phytophthora infestans*, late blight, plant disease control, organic horticulture.

## Introducción

El chile dulce (*Capsicum annuum*) y el tomate (*Lycopersicon esculentum*) son considerados entre los productos hortícolas de mayor importancia en Costa Rica, tanto por la actividad económica asociada a su producción como por su riqueza nutritiva. Según SEPSA (2002), en 1995 se plantaron 208 ha de tomate, que produjeron 8319 t, mientras que en 2001 se cosecharon 49.746 t de 1413 ha plantadas. Aunque los precios de ambos cultivos varían mucho en las diferentes épocas del año y no siguen un

patrón, los precios promedio por año hacen que la actividad sea rentable. El precio promedio para el chile dulce en el período 1996-2001 fue de US\$ 0,20 la unidad y el costo de producción de US\$ 0,14, mientras que para el tomate fue de US\$ 0,65 el kg y el costo de producción fue de US\$ 0,44 (Sandoval 2002).

En el campo no pueden modificarse las condiciones climáticas, por lo que el cultivo es muy riesgoso, mientras que la producción bajo techo o en ambiente controlado (invernadero) permite aumentar la productividad mediante

<sup>1</sup> Vigilancia Control de Plagas, Servicio Fitosanitario del Estado, Ministerio de Agricultura y Ganadería, Cartago, Costa Rica. wsalas@protectnet.go.cr

<sup>2</sup> CATIE, Turrialba 7170, Costa Rica. sanchezv@catie.ac.cr

el manejo de algunos factores meteorológicos como temperatura, luz y humedad (Morgan 1984, Salazar y Castro 1994). Sin embargo, el cultivo en ambiente controlado presenta algunos problemas, entre ellos plagas y enfermedades, que la mayoría de los productores controlan con la aplicación de gran cantidad de productos químicos. Entre las enfermedades más severas se encuentra el moho gris, causada por el hongo *Botrytis cinerea*, que ataca flores, frutos y tallos de plantas de chile y tomate, causando serios daños al cultivo y pérdidas económicas a los productores (Virgen et ál. 1991, Eden et ál. 1996).

El uso continuo de productos químicos para el control de esta enfermedad ha provocado que la población del hongo sea cada vez más resistente (Elad et ál. 1992, Leroux et ál. 1999, Melgarejo et ál. 2002). Además, existe el riesgo de contaminación, que se incrementa al usar plaguicidas en condiciones intensivas y ambientes cerrados, en primer lugar porque los trabajadores están más expuestos a los plaguicidas, y en segundo lugar porque aumenta la posibilidad de contaminación de aguas subterráneas, por la concentración de plaguicidas en áreas pequeñas. Por otro lado, las hortalizas que llegan al consumidor pueden presentar mayor cantidad de residuos, que en condiciones campo abierto serían lavados por la lluvia.

Entre las opciones de manejo en invernaderos se ha considerado el control biológico, que aunque puede ser de acción más lenta ofrece la posibilidad de ser más estable, duradero y con menos daños al ambiente (Borda y Arbeláez 1985). Debido a lo anterior y dada la importancia que está adquiriendo el cultivo de chile y tomate en invernadero, se consideró necesario realizar investigaciones que permitan encontrar controladores biológicos de *Botrytis cinerea*.

El género *Botrytis* pertenece a la clase Hyphomycetes, orden Moniliales, y fue uno de los primeros géneros de hongos descritos. Su nombre, así como los síntomas de la enfermedad que produce (moho gris), son conocidos desde hace muchos años. Las enfermedades causadas por este hongo son probablemente las más comunes y más ampliamente distribuidas en el mundo. Este patógeno ataca principalmente hortalizas, frutales, plantas ornamentales y muchos productos almacenados; puede afectar casi todas las partes de la planta (Elad 2000, Rosslenbroich 2000).

*B. cinereas* es fácilmente aislado del suelo donde crece como saprofito; dado su crecimiento en material en descomposición, este es posiblemente la principal fuente de inóculo. La enfermedad se desarrolla en ciclos secundarios sucesivos que se traslapan y se confunden (Sherf y Mac Nab 1986). El hongo sobrevive en el suelo como micelio en plantas muertas, donde forma esclerosios que permanecen latentes. Aunque no puede infectar semillas, puede ser

diseminado mediante semillas contaminadas o en trozos de plantas infectadas. El hongo requiere temperaturas de 18 a 23 °C para un buen crecimiento, esporulación, liberación de esporas, germinación de las mismas e infección. En el campo, la incidencia de la enfermedad aumenta cuando hay períodos prolongados de humedad y temperaturas de entre 15 y 20 °C, sobre todo durante la floración y la maduración de los frutos (Latorre et ál. 1997). Las esporas que germinan sobre la planta rara vez penetran directamente en los tejidos que muestran crecimiento activo; por lo general, lo hacen a través de heridas, o después de haber formado micelio. Prefieren los pétalos de flores senescentes y follaje moribundo de las plantas (INFOAGRO 2003).

Varios autores consideran que es posible manejar las condiciones microclimáticas en los invernaderos para prevenir el desarrollo de las enfermedades. La humedad relativa se considera entre las principales condiciones meteorológicas por considerar para el manejo de *B. cinerea*. Dentro del invernadero, la humedad relativa debe mantenerse entre 50% y 60%, debido a que a humedades superiores el cultivo es más susceptible al ataque (Shtienberg y Elad 1997, Moyano et ál. 2003).

### Control biológico

Se han descrito diversos hongos y bacterias como controladores biológicos del moho gris. Entre los hongos más estudiados se encuentran especies de *Trichoderma* y *Cladosporium*, particularmente *Trichoderma harzianum* (Zimand et ál. 1996, Silva-Ribeiro et ál. 2001). Varios aislamientos han resultado eficaces para el control de este patógeno en cultivos dentro de invernadero (Eden et ál. 1996).

Eden et ál. (1996) encontraron una reducción de la infección en tomate hasta del 100% utilizando *T. harzianum* y *Cladosporium cladosporioides*. En esta investigación, partes terminales de tallo de tomate de 40 mm de longitud fueron introducidos en una solución de esporas del *B. cinerea* ( $2 \times 10^3$  ml<sup>-1</sup>) y luego secadas con aire durante 1 hora y sumergidas en una suspensión de esporas del antagonista. El mejor nivel de protección se obtuvo con una concentración de  $1 \times 10^8$  conidias por mililitro de agua, aplicada dos horas después de inocular el patógeno. Similares resultados se observaron en invernadero en plantas que habían sido podadas y a las que se les aplicó las mismas concentraciones de patógeno y antagonistas.

Elad y Zimand (1993) encontraron una reducción del 90% del daño causado por *B. cinerea* en plantas de pepino cultivadas en invernadero con la aplicación de *T. harzianum*. El antagonista incrementó su capacidad de controlar la enfermedad cuando la temperatura fue superior a 20 °C y la humedad relativa alrededor de 80%. Sin embargo, con humedad

relativa cercana al 100% no se observó efecto alguno. Latorre et ál. (1997) recomiendan que los tratamientos con este hongo sean complementados con fungicidas convencionales cuando las condiciones ambientales son altamente favorables para el desarrollo de la enfermedad. Kohl et ál. (1998) encontraron un resultado similar al aplicar una suspensión de conidias de *Ullocladium atrum* o *Gliocladium roseum*,  $1 \times 10^6$  ml<sup>-1</sup> y  $2 \times 10^6$  ml<sup>-1</sup>, respectivamente, para el control de *B. cinerea* en plantas de ciclamen (*Cyclamen persicum* L.).

En cuanto al uso de bacterias, Mari et ál. (1996) identificaron 13 cepas de *Bacillus amyloliquefaciens* que fueron activas contra *B. cinerea*.

## Materiales y métodos

El presente estudio consistió en el aislamiento y multiplicación de *B. cinerea*, así como en el aislamiento y la evaluación de antagonistas en invernadero experimental y comercial. Los trabajos se realizaron en el Laboratorio e Invernadero de Fitopatología de la Unidad de Fitoprotección del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), así como en un invernadero comercial ubicado en San Antonio de Santa Cruz de Turrialba, propiedad del señor Gerardo Arias.

### Aislamiento del patógeno y los antagonistas

Se recolectaron tallos infectados con *B. cinerea* en invernaderos comerciales de chile y tomate en tres localidades: Cervantes, La Urieta y San Antonio, los cuales se colocaron en una cámara húmeda para estimular el crecimiento del hongo. Cuando se observó la esporulación del patógeno, este se aisló en medio papa-dextrosa-agar (PDA), incubado a 22 °C con luz fluorescente alterna cada 12 horas. Se usó una mezcla de los aislamientos obtenidos para evaluar los antagonistas.

Para obtener los antagonistas se tomaron muestras del suelo, tallos, hojas y raíces de plantas sanas de cultivos donde la enfermedad estaba presente para garantizar la obtención de antagonistas bajo una alta presión de inóculo del patógeno. Las muestras se colocaron en agua destilada y se agitaron durante 20 minutos; el extracto se cultivó en PDA a 22 °C, y los aislamientos puros se conservaron para las siguientes pruebas.

### Selección y evaluación de antagonistas

Se realizó una preselección de antagonistas cultivados en PDA, seleccionando principalmente hongos que la literatura reporta con potencial antagonista, la mayoría del género *Trichoderma* sp. Posteriormente, se llevó a cabo una selección en placas precolonizadas con cultivos puros del patógeno. Sobre el crecimiento del patógeno se colocó una

gota de suspensión de esporas de cada uno de los hongos previamente aislados. La metodología permitió seleccionar únicamente 16 cepas de hongos capaces de alimentarse del patógeno y por lo tanto hiperparásitos.

Las 16 cepas que mostraron efecto hiperparasítico se evaluaron en grupos de cuatro en bionsayos en hojas desprendidas de tomate. Se colocó una hoja de tomate con cinco folíolos en una cámara húmeda como unidad experimental; en cada uno de los folíolos se colocó una gota (20 UI) de suspensión de esporas de *B. cinerea* ( $1 \times 10^6$  conidias ml<sup>-1</sup>). Pasadas 24 horas, cada hoja se asperjó con 2,5 ml de suspensión de esporas del antagonista ( $1 \times 10^6$  ml<sup>-1</sup>). Doce días después se evaluó el porcentaje de folíolos que desarrollaron la enfermedad.

Los aislamientos que presentaron buen efecto antagonista y fácil crecimiento se evaluaron en el invernadero experimental del CATIE. Se usaron plantas de chile de la variedad cultivada Trópico Irazú. A cada planta de 12 semanas de edad se le dobló una rama para favorecer el inicio de la infección y se asperjó toda la planta con una suspensión de conidias ( $1 \times 10^6$  conidias ml<sup>-1</sup>). A las 48 horas se le asperjó una suspensión de esporas del patógeno a toda la planta a la misma concentración. La infección se desarrolló en ramas, frutos y flores, siendo este último el órgano que presentó la mayor regularidad e incidencia, por lo que se eligió para hacer las mediciones.

Se utilizaron seis tratamientos, que consistieron en cuatro suspensiones de antagonistas correspondientes a cada cuatro aislamientos seleccionados, un testigo al que solo se le aplicó agua y otro al que solo se le aplicó *B. cinerea*. Se evaluaron cuatro plantas por tratamiento en un diseño irrestricto al azar y se midió como variable de respuesta el número de flores enfermas por planta por semana a partir de 10 días después de la inoculación del patógeno. Esta etapa también incluyó la recolección de datos de temperatura y humedad relativa dentro del invernadero.

Se realizó un análisis multivariado (prueba de esfericidad) para comprobar la independencia de las unidades experimentales. Luego se realizó un análisis de varianza como parcelas divididas en el tiempo para comprobar la diferencia entre tratamientos y la diferencia entre las mediciones en el tiempo. Para establecer la relación entre el desarrollo de la enfermedad y cada una de estas variables meteorológicas, se realizaron pruebas de correlación con datos meteorológicos de la misma semana, una y dos semanas antes de la medición.

Los mismos tratamientos evaluados en el invernadero experimental fueron evaluados en un invernadero comercial (San Antonio). El diseño experimental y análisis de los datos fueron los mismos que en el experimento en

invernadero experimental, excepto que no se tomaron datos de temperatura y humedad relativa.

## Resultados y discusión

### Selección de antagonista

De las muestras de tejido y suelo se obtuvo más de 200 aislamientos de microorganismos, de los cuales se seleccionaron 60 aislamientos de hongos que crecieron bien en PDA y que la literatura reporta con potencial como hiperparásitos, principalmente *Trichoderma* sp. Este género se cita en muchas investigaciones como agente de control biológico de patógenos, debido a su abundancia, rápido crecimiento y color oscuro, que proporciona resistencia a la luz solar. Se rechazaron bacterias y otros microorganismos de manejo más difícil. Las 60 cepas de hongos se conservaron en nitrógeno líquido, para futuras investigaciones, antes de ser evaluadas en placas precolonizadas, donde se seleccionaron los 16 que mostraron mejor crecimiento (hiperparásitos) sobre *B. cinerea* (Cuadro 1).

En los bioensayos en hojas desprendidas los primeros síntomas de moho gris se observaron en la mayoría de los tratamientos cuatro días después de que los folíolos fueron inoculados con el patógeno, pero se evaluaron a los 12 días cuando los primeros tratamientos alcanzaron el 50% de incidencia, lo cual ocurrió cuando las hojas empezaron a necrosarse.

Los mejores antagonistas obtenidos en las cuatro pruebas en hojas desprendidas fueron 0411, 1411, APP160,

**Cuadro 1.** Cepas de hongos antagonistas de *B. cinerea* obtenidos en placas precolonizadas

Antagonista	Origen	Procedencia <sup>a</sup>
1414	Hoja de tomate	Torito
1413	Tallo de tomate	CATIE
1411	Suelo	CATIE
1119	Tallo de tomate	La Urieta
2602	Suelo	Colorado
0408	Suelo	San Antonio
0412	Tallo de chile	San Ramón
0403	Tallo de tomate	Torito
APP160	No disponible	CATIE
1107	Hoja de Chile	CATIE
0411	Tallo de Chile	San Antonio
1411	Suelo	CATIE
1407	Suelo	Torito
0406	Suelo	San Ramón
1102	Tallo de chile	Urieta
1105	No disponible	CATIE

Notas: Todos los antagonistas pertenecen al género *Trichoderma*, excepto el 1119, que pertenece al género *Fusarium*. <sup>a</sup>CATIE = Colección de antagonistas del CATIE; todos los demás sitios se encuentran en el cantón de Turrialba.

**Cuadro 2.** Mejores antagonistas de *Botrytis cinerea* inoculada en hojas desprendidas

Antagonista	Incidencia (%)
0411	10
APP 160	15
1107	25
1411	40
1102	50
1407	55

1107, 1102 y 1407 (Cuadro 2). De los seis (todos del género *Trichoderma*), los cuatro primeros fueron evaluados tanto en invernadero experimental como en invernadero comercial. La selección se hizo tomando en cuenta los menores porcentajes de infección observados. El único *Fusarium* sp. (1119) evaluado no presentó un buen efecto antagonista sobre *B. cinerea*; no obstante, miembros de este género han sido citados con potencial antagonista sobre *B. cinerea* (Paulitz y Bélanger 2001, Sánchez et al. 1998).

En el bioensayo realizado en el invernadero experimental el moho gris se desarrolló y esporuló muy bien en ramas dobladas que, aunque presentan una lesión extensa, conservan una parte del tejido sano y adherido, resultado que coincide con lo observado por Kohl et ál. 1998. Según Utkhede y Mathur (2002), *B. cinerea* se desarrolla como saprofito en hojas y flores senescentes de las plantas de tomate y chile y, si las condiciones de nutrientes son adecuadas, produce el micelio que invade partes sanas de la planta. Este es un aspecto de manejo que los productores deben tomar en cuenta, ya que durante las labores de cultivo dentro del invernadero se producen heridas en las plantas, principalmente tallos doblados, que posteriormente son atacados por el hongo, desde donde este se dispersa e infecta otras plantas.

La menor cantidad de flores enfermas correspondió al testigo absoluto (solamente agua) (Figura 1A); lo cual refleja cantidades muy bajas de inóculo natural. Los tratamientos con las cepas 0411 y 1411 presentaron diferencias significativas frente al testigo, de 37 y 38%, respectivamente. A su vez, el aislamiento 0411 mostró un porcentaje de incidencia menor en hojas desprendidas.

En el bioensayo en invernadero comercial hubo poca presencia de la enfermedad, a pesar de que se hizo la inoculación artificial, lo que conduce a suponer que las condiciones meteorológicas no favorecieron al patógeno. El mayor daño fue de 1,5 flores por planta de 13 flores que la planta tenía en total, lo que representa un 11%. Es posible que la humedad relativa fuera inferior a 95% y la temperatura superior a 20 °C durante períodos prolongados.

El menor número de flores enfermas observadas en el experimento en invernadero comercial (Figura 1B) se

obtuvo con el testigo de agua y con los tratamientos 0411 y 1411, diferencias que fueron significativas con el testigo donde se aplicó únicamente *B. cinerea*. En este experimento, el mejor antagonista fue el 1411, con el cual se redujo la cantidad de flores enfermas en un 29%, seguido de 0411, que mostró un 23% de reducción de la enfermedad.

En el invernadero comercial (Figura 2A) la enfermedad se desarrolló a partir de la primer semana de medición (que correspondió a los 10 días de aplicado el patógeno), aumentó durante la segunda semana y se estabilizó durante las siguientes. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la primera semana y el resto de evaluaciones. A diferencia del experimento en el invernadero del CATIE (Figura 2A), donde la enfermedad se mantuvo a partir de la segunda semana; esto obedece a mejores condiciones de humedad y temperatura para el desarrollo del patógeno, ya que las plantas en ambos invernaderos tenían las mismas condiciones de edad, manejo y tratamientos. Además, se observa que la enfermedad se redujo completamente, lo cual está directamente correlacionado con la reducción de la humedad relativa de 97 a 91%.

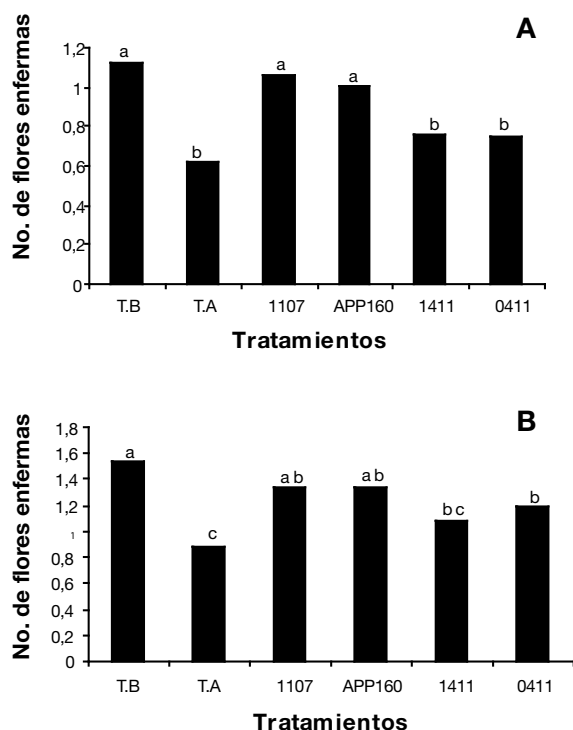
Si se comparan estos resultados con los obtenidos en los bioensayos de hojas desprendidas, se puede observar que el aislamiento 0411, que presentó las incidencias más

bajas en las hojas, también presentó los números más bajos de flores enfermas en las pruebas de invernadero. Este resultado permite suponer que tiene potencial como antagonista (posiblemente hiperparásito). Además, demuestra que es factible encontrar antagonistas de *B. cinerea* mediante el método propuesto.

La persistencia del efecto antagonista durante tres semanas en el invernadero experimental y durante dos semanas en el invernadero comercial sugiere que estos controladores deben ser aplicados repetidas veces, tal como ocurre con los fungicidas comerciales. Su supervivencia en la superficie de las hojas depende tanto de su capacidad de colonizar la planta, como de las condiciones ambientales y de manejo. Moyano et ál. (2003) aplicaron un producto a base de *T. harzianum* (T 39) en hojas de tomate, y encontraron que la población fue alta en los primeros días después de cada aplicación, pero luego decreció a tal punto que 20 días después de la aplicación solamente quedaba un 6%.

El desarrollo de la enfermedad fue mayor en el invernadero comercial que en el experimental (Figura 2B), especialmente en las semanas finales. Es posible que la presión de inóculo más alta redujera el efecto de los antagonistas a dos semanas, en comparación con las tres semanas que tuvieron en el experimental. Aunque la mayoría de los experimentos con antagonistas para *B. cinerea* se han realizado utilizando  $1 \times 10^6$  esporas  $\text{ml}^{-1}$ , que además presentó el mejor control en las pruebas preliminares de esta investigación, es posible que al aumentar la concentración de los antagonistas se observe un mejor control contra el patógeno y que el período de control aumente.

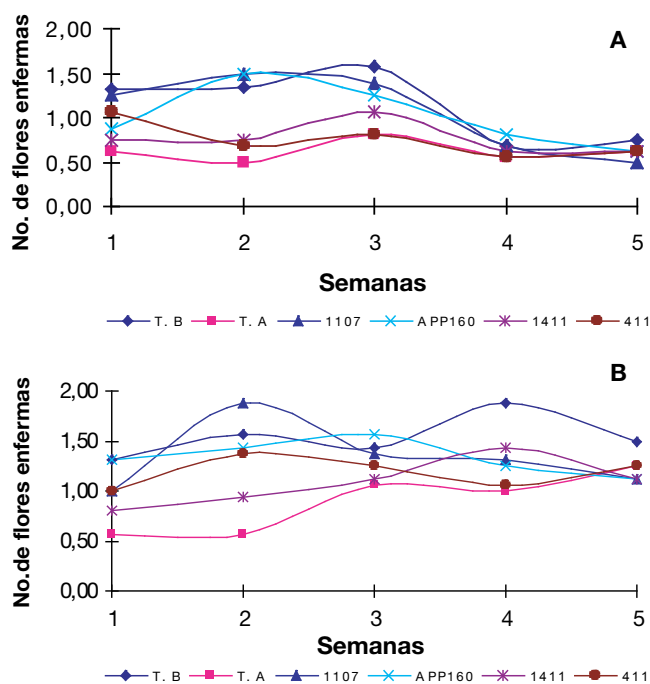
Sutton et ál. (2002) encontraron una correlación negativa entre la concentración de *Clonostachys rosea* y la esporulación de *B. cinerea* en tallos de tomate en cultivo hidropónico en invernadero. Sin embargo, aumentar la dosis del antagonista a nivel experimental contrasta con lo propuesto por algunos autores, quienes consideran que para selección de antagonistas, las condiciones deben ser favorables al patógeno, para que los antagonistas seleccionados sean los mejores. Se observó además que el grado de control de algunos antagonistas evaluados varió de una semana a otra. Esto puede atribuirse a los requerimientos que cada antagonista posee para su establecimiento sobre la planta (Shtienberg y Elad 1997).



**Figura 1.** Número total de flores enfermas (*B. cinerea*) por tratamiento: cuatro cepas de antagonista (1107, APP 160, 1411 y 0411), un testigo donde se aplicó únicamente agua (TA) y un testigo donde se aplicó únicamente el patógeno (TB), A en el experimento realizado en el invernadero experimental de CATIE; B en el experimento realizado en el invernadero comercial de San Antonio.

### El efecto de factores climáticos sobre el desarrollo de la enfermedad

La disminución de la enfermedad fue mayor que la disminución en la humedad relativa máxima y mínima. Esto se explica si se considera que las condiciones óptimas para



**Figura 2.** Número de flores enfermas por *B. cinerea* por semana en los tratamientos evaluados: (A) en el invernadero experimental de CATIE; (B) en invernadero comercial de San Antonio.

*B. cinerea* son de entre 96 y 100% de humedad relativa, por lo que cambios en ese rango provocan reducciones grandes en la severidad de la enfermedad. Moyano et ál. (2002) consideran que una humedad relativa inferior a 96% y una temperatura superior a 26 °C son condiciones subóptimas para *B. cinerea* y mencionaron que, en estos casos, el progreso de la enfermedad es lento o nulo.

La humedad relativa y la temperatura tienen una relación inversa, de manera que en aquellas semanas en que la incidencia de la enfermedad es alta (al igual que la humedad relativa), la temperatura es baja, aunque la correlación no fue significativa (Figura 3). Según Jarvis (1992), la baja humedad relativa durante el día se explica por el rápido aumento de la temperatura en la mañana sin que el aire absorba humedad con la misma velocidad. Por la noche ocurre lo contrario.

Jarvis (1992) encontró que la temperatura de las hojas, flores y frutos puede diferir significativamente de la temperatura del aire, y cuando la temperatura de estas partes de la planta es baja pueden ser afectadas por los patógenos. Los cambios de temperatura también desempeñan un papel importante en la condensación sobre flores y frutos y, por lo tanto, en el desarrollo de enfermedades como las provocadas por *B. cinerea*. De Vis (1999) menciona que los botones florales y los frutos de chile y tomate son cuerpos fríos sobre los cuales se condensa agua cuando baja la temperatura, condición que es óptima para la germinación

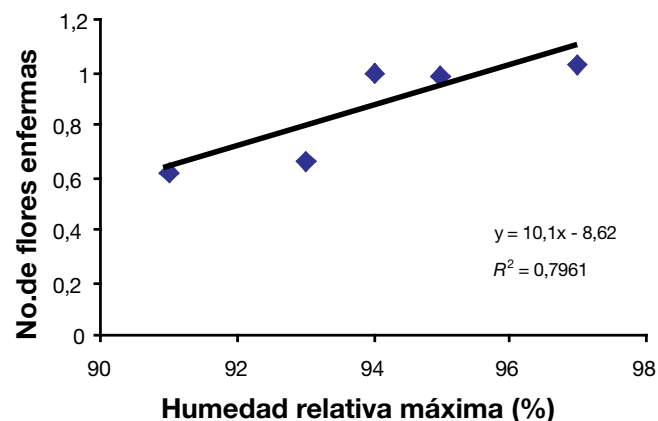
de esporas de *B. cinerea*. Ninguno de estos factores fue medido en este experimento.

Durante las cinco semanas de evaluación, tanto la temperatura como la humedad relativa siguieron un patrón en el cual la temperatura fue máxima en el día y bajó durante la tarde, la noche y hasta las primeras horas de la mañana, pero su promedio fue 25 °C, lo cual no favorece el desarrollo de la enfermedad. El promedio de humedad relativa fue de 70%, obteniendo el mínimo en un solo momento alrededor de medio día, y las máximas abarcaron períodos largos durante la noche hasta las primeras horas de la mañana y variaron entre 91 y 97%. Por eso, consideramos que la variación en la enfermedad fue consecuencia principalmente de la humedad relativa.

Los antagonistas 0411 y 1411 (ambos del género *Trichoderma*) mostraron potencial como agentes de control biológico *B. cinerea*. Sin embargo, en futuras investigaciones se deben evaluar diferentes concentraciones y mezclas de las cepas, así como formulaciones y sustratos que mejoren el efecto de estos antagonistas.

La metodología utilizada en este experimento fue eficaz para la selección y evaluación de antagonistas de *B. cinerea*, principalmente hiperparásitos aislados de las hojas de la planta, pero dado que el efecto de la enfermedad es sobre flores y por lo tanto incide directamente sobre la producción, se recomienda que en futuras evaluaciones se evalúe la producción.

La correlación positiva entre la humedad relativa máxima y la humedad relativa mínima con la cantidad de flores infectadas por el patógeno sugiere la importancia de manejar el riego dentro del invernadero, usando el mínimo de agua, como estrategia en el manejo de esta enfermedad, al igual que la importancia de repetir los bioensayos en diferentes épocas del año para evaluar la eficacia de los antagonistas bajo diferentes condiciones ambientales.



**Figura 3.** Relación entre la humedad relativa máxima de la misma semana y la cantidad de flores enfermas por *Botrytis cinerea* en plantas de chile en invernadero experimental.

En condiciones de invernadero, el efecto de los antagonistas evaluados se redujo transcurridas tres semanas, lo cual sugiere que se deben realizar aplicaciones sucesivas para mantener los niveles de control durante todo el ciclo de cultivo.

Se observó que *B. cinerea* aprovecha muy bien las heridas, particularmente las ramas dobladas, como puerta de entrada a la planta. Por lo tanto se recomienda evitar lesiones durante las labores de cultivo. Por último, se recomienda evaluar la compatibilidad de la aplicación de los antagonistas 0411 y 1411 y los fungicidas químicos de uso frecuente, pues en la producción convencional puede ser necesario integrar el control biológico con otros métodos de manejo, incluyendo la utilización de productos químicos.

### Literatura citada

- Borda, F; Arbeláez, G. 1985. Control del marchitamiento vascular del pepino ocasionado por *Fusarium oxysporum* Schl. Con el aislamiento T-95 de *Trichoderma harzianum* Rifai. Fitopatología Colombiana 11(2):10-15.
- De Vis, R. 1999. Factores en el control de clima en invernaderos. In Clima, Fisiología y Producción de Cultivos Bajo Invernadero. Bogotá, CO, Centro de Investigaciones y Asesorías Agroindustriales CIAA, Universidad de Bogotá. p. 9-17.
- Eden, MA; Hill, RA; Steward, A. 1996. Biological control of *Botrytis* stem infection of greenhouse tomatoes. Plant Pathology 45:276-284.
- Elad, Y. 2000. *Trichoderma harzianum* T39 preparation for biocontrol of plant diseases control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. Biocontrol Science and Technology 10:499-507.
- Elad, Y; Zimand, G. 1993. Use of *Trichoderma harzianum* in combination or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial greenhouse conditions. Plant Pathology 42:324-332.
- Elad, T; Yunis, H; Katan, T. 1992. Multiple fungicide resistance to benzimidazoles, dicarboximides and diethofencarb in field isoletes of *B. cinerea* in Israel. Plant Pathology 41:41-46.
- INFOAGRO. 2003. *Botrytis cinerea*, agente causal de la podredumbre gris. Técnicas para el control (en línea). Consultado 30 set. 2003. Disponible en <http://www.infoagro.com/abonos/botrytis.asp>
- Jarvis, WR. 1992. Managing diseases in greenhouse crops. ST Paul, US, American Phytopathological Society. 228 p.
- Kohl, J; Gerlagh, M; De Haas, B; Krijger, M. 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. Phytopathology 88(6):568-575.
- Leroux, P; Chapeland, F; Desbrosses, D; Gredt, M. 1999. Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. Crop Protection 18:687-697.
- Latorre, BA; Agostin, E; San Martín, R; Vázquez, GS. 1997. Effectiveness of conidia of *Trichoderma harzianum* produced by liquid fermentation against *Botrytis* bunch rot of table grape in Chile. Crop Protection 16(3):209-214.
- Mari, M; Guizzardi, M; Brunelli, M; Folchi, A. 1996. Postharvest biological control of grey mould (*Botrytis cinerea* pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *Bacillus amyloliquefaciens*. Crop Protection 15(8):699-705.
- Melgarejo, P; Raposo, R; Moyano, C; Gómez, V. 2002. Control integrado de *Botrytis cinerea* en cultivos hortícolas de invernadero. Phytoma (España) 135:125-127.
- Morgan, VM. 1984. The effect of night temperature and glasshouse ventilation on the incidence of *Botrytis cinerea* in a late-planted tomato crop. Crop Protection 3:243-251.
- Moyano, C; Raposo, R; Gómez, V; Melgarejo, P. 2003. Integrated *Botrytis cinerea* management in southeastern Spanish greenhouses. Journal of Phytopathology 151:80-85.
- Paulitz, TC; Bélanger, RR. 2001. Biological control in greenhouse systems. Annual Review of Phytopathology 39:103-133.
- Rosslenbroich, HJ; Stuebler, D. 2000. *Botrytis cinerea* – history of chemical control and novel fungicides for its management. Crop Protection 19:557-561.
- Salazar, H; Castro, R. 1994. Evaluación y manejo de enfermedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) bajo invernadero. Agronomía (Col) 6(3):29-34.
- Sánchez-Garita, V; Bustamante, E; Shattock, R. 1998. Selección de antagonistas para el control biológico de *Phytophthora infestans* en tomate. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 48:25-32.
- Sandoval Vázquez, JF. 2002. Precios reales para productos agrícolas Servicio de Información de Mercados, Consejo Nacional de Producción (CNP). 6 p.
- SEPSA (Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria). 2002. Estadísticas agropecuarias. Boletín Estadístico no. 12: Estudios económicos e información. 30 p.
- Silva-Ribeiro, R; Termignoni, C; Dillon, A; Henriques, J. 2001. Efeito letal de cinco linhagens de *Trichoderma* spp. sobre o fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Summa Phytopatologica 27(4):364-369.
- Sherb, A; MacNab, A. 1986. Vegetable diseases and their control. 2 ed. Nueva York, US, John Wiley. 728 p.
- Shtienberg, D; Elad, Y. 1997. Incorporation of weather forecasting in integrated, biological-chemical management of *Botrytis cinerea*. Phytopathology 87(3):332-340.
- Sutton, JC; Liu, W; Huang, R; Owen-Going, N. 2002. Ability of *Clonostachys rosea* to establish and suppress sporulation potential of *Botrytis cinerea* in defoliated stems of hydroponic greenhouse tomatoes. Biocontrol Science and Technology 12:413-425.
- Utkhede, RS; Manthur, S. 2002. Biological control of stem canker of greenhouse tomatoes caused by *Botrytis cinerea*. Canadian Journal of Microbiology 48:550-554.
- Virgen, G; Vázquez, M; López, JM; Salas, MR. 1991. Inhibición de la germinación de *Botrytis* sp. y *Phragmidium* sp. con extractos acuosos de meliáceas y liliáceas. In Simposio (2) y Reunión Nacional de Agricultura Sostenible (1). Memorias. Un enfoque agroecológico, socioeconómico y de desarrollo. Guadalajara, México. Comisión de Estudios Ambientales, CP. IICA. p. 151-153.
- Zimand, G; Elad, Y; Chet, I. 1996. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. Phytopathology 85:1255-1260.