

EVALUACIÓN DE CUATRO BIOFUNGICIDAS Y DOS CEPAS DEL GÉNERO *Trichoderma* CONTRA EL MOHO GRIS EN *Rosa*

Paulo G. García-Murillo¹

¹ Universidad Santo Tomás. Facultad de Ciencias y Tecnologías
Programa de Administración Ambiental y de los Recursos Naturales. Bogotá, Colombia
E-mail: paulogarcia@ustadistancia.edu.co - pggarciam@unal.edu.co

Recibido: 06/08/2020
Aceptado: 04/06/2021

RESUMEN

Botrytis cinerea es uno de los fitopatógenos más limitantes en la producción de la rosa en Colombia, donde el control químico es la principal medida de manejo del moho gris, siendo esta práctica cuestionada por los problemas ambientales que genera. Por ello, el propósito de este trabajo fue evaluar la protección contra *B. cinerea* de dos cepas del género *Trichoderma* denominadas USTA-Tri004 y USTA-Tri006 y cuatro biofungicidas a base de dos cepas de *Aureobasidium pullulans*, una cepa de *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma lignorum*. Los resultados mostraron que las cepas de *A. pullulans* y la cepa USTA-Tri004 alcanzaron un 100% de protección contra el moho gris en rosa. Con las cepas de *T. harzianum*, *T. lignorum* y la cepa USTA-Tri006 se alcanzó una protección superior al 85% contra *B. cinerea*. En contraste, con una cepa de *B. subtilis* sólo se alcanzó un 63% de protección contra este fitopatógeno. Los resultados demuestran que la aplicación preventiva de las dos cepas de *A. pullulans*, las cepas *T. harzianum* y *T. lignorum*, y las cepas USTA-Tri004 y USTA-Tri006 inhiben los síntomas y signos producidos por *B. cinerea* en tallos de rosa.

Palabras clave: *Aureobasidium pullulans*, *Bacillus subtilis*, control biológico, tratamiento preventivo.

EVALUATION OF FOUR BIOFUNGICIDES AND TWO STRAINS OF THE GENUS *Trichoderma* AGAINST GRAY MOLD ON *Rose*

SUMMARY

Botrytis cinerea is one of the most limiting phytopathogens in rose production in Colombia, where chemical control is the main practices for gray mold management, which is criticized by causing environmental problems. For this reason, the purpose of the present work was to evaluate the protection against *B. cinerea* using two strains of the genus *Trichoderma* named USTA-Tri004 and USTA-Tri006 and four biofungicides based on two strains of *Aureobasidium pullulans*, a strain of *Bacillus subtilis*, and a strain of *Trichoderma harzianum*, and *Trichoderma lignorum* respectively. Results showed that the *A. pullulans* strains and the USTA-Tri004 strain achieved 100% protection against gray mold on rose. The strains of *T. harzianum*, *T. lignorum* and the strain USTA-Tri006 determined a protection higher than 85% against *B. cinerea*. Instead, with a strain of *B. subtilis* only 63% protection was achieved against this phytopathogen. The results show that the preventive application of the two strains of *A. pullulans*, the strains *T. harzianum* and *T. lignorum*, and the strains USTA-Tri004 and USTA-Tri006 inhibit the symptoms and signs produced by *B. cinerea* in stems of rose.

Key Words: *Aureobasidium pullulans*, *Bacillus subtilis*, biological control, preventive treatment.

INTRODUCCIÓN

La producción de frutas, hortalizas y ornamentales incluida la rosa es limitada por el moho gris causado por *Botrytis cinerea* Pers.: F. Este hongo fitopatógeno puede causar la enfermedad en diferentes latitudes a nivel mundial, y es capaz de desarrollarse bajo una amplia gama de condiciones microclimáticas, tanto a campo y en invernáculo, como durante la poscosecha (Droby *et al.*, 2009). En Colombia, las flores de corte de *Rosa* sp. constituyen un importante producto de exportación (el país ocupa el segundo lugar como exportador a escala mundial). Se destaca el cultivo de rosa en la Sabana Bogotá, ya que este aporta hasta un 4% de las flores de esta especie requeridas a escala mundial por su alta calidad (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015, p. 12). En la Sabana de Bogotá, una de las principales causantes de pérdidas de cultivo tanto bajo invernáculo como en la poscosecha es por *B. cinerea*, causante del moho gris (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015, p. 27).

En rosa, la infección por *B. cinerea* puede ocurrir en hojas, tallos y flores durante su cultivo bajo invernáculo, o bien permanecer de forma quiescente al interior de los tejidos, generándose la infección después de la cosecha y el almacenamiento, transporte o en la etapa de comercialización de las flores (Zadehdabagh *et al.*, 2020). La agresividad de este patógeno se relaciona, en gran medida, con su alta capacidad de dispersión, la cual resulta de una alta velocidad de formación de sus estructuras de reproducción asexual (conidióforos) y de la elevada diseminación de conidios que tiene lugar desde plantas enfermas a plantas sanas (Carisse *et al.*, 2014). *B. cinerea* es considerado uno de los hongos fitopatógenos más interesantes debido a sus características únicas, relacionadas con su capacidad de sobrevivir en el suelo por largos períodos de tiempo, al producir esclerocios como estructuras de resistencia; puede ser saprofito, lo que le permite inicialmente establecerse en partes de las plantas debilitadas o en descomposición, y de ahí se puede extender a otras zonas de la planta con tejido sano. A su vez, este hongo puede ser un invasor secundario y atacar aquellos tejidos de la planta que ya han sido infectados por otro fitopatógeno; o bien, puede ser un patógeno primario, ya que puede penetrar directamente los tejidos de su hospedante desde la cutícula utilizando diferentes enzimas para su degradación (Bertolini *et al.*, 2003).

Para el control de *B. cinerea* se utiliza, como primera medida, la aspersion periódica de fungicidas de síntesis química, lo que ha sido, por mucho tiempo, la piedra

angular para reducir la incidencia y severidad de este patógeno en diversos sistemas de producción. Las intervenciones más comunes consisten en realizar aplicaciones de productos químicos en las partes aéreas de las plantas (Mora, 2005). Sin embargo, esta estrategia de manejo del moho gris es cuestionada, no sólo por sus potenciales efectos ecológicos negativos, sino también por generar resistencia en el microorganismo patógeno, lo que obliga a los agricultores a aumentar las dosis y frecuencias de aplicación de fungicidas (Sautua *et al.*, 2019).

Como alternativa a esta metodología de control de *B. cinerea* se ha propuesto apelar a una combinación de diferentes estrategias, tal como el uso conjunto de diferentes agentes de control biológico, para disminuir la presión de selección sobre las poblaciones de *B. cinerea* y el desarrollo de resistencia atribuido al control químico (Merchán-Gaitán *et al.*, 2014). El control biológico de *B. cinerea*, puede ser una alternativa al uso generalizado de los fungicidas de síntesis química, ya que contribuye, en gran medida, a reducir los efectos negativos sobre el medio ambiente, así como disminuir las pérdidas generadas por este fitopatógeno en el cultivo y en poscosecha.

Hay distintos ejemplos de uso de control biológico de *B. cinerea* en ornamentales, hortalizas y frutas. Las cepas de la bacteria FZB42 *Bacillus amyloliquefaciens* y del hongo *Aureobasidium pullulans* (cepas DSM 14940 y DSM 14941), por ejemplo, logran reducir significativamente la incidencia de *B. cinerea* en fresa bajo condiciones de cultivo (De Senna y Lathrop, 2017). A su vez, las cepas Tsafi de *Trichoderma atroviride* y la cepa IRAN 523C de *T. harzianum* reducen significativamente el crecimiento del micelio de *B. cinerea* en condiciones in vitro e in vivo en el cultivo de rosa. Esta actividad antagónica de las cepas mencionadas y el patógeno se asoció a compuestos volátiles y no volátiles emitidos en especial por la cepa Tsafi de *T. atroviride*. En condiciones in vivo, la cepa Tsafi de *T. atroviride* generó mayor reducción del tizón en flores de rosa causado por *B. cinerea* que la cepa IRAN 523C de la especie *T. harzianum*, lo que la convierte en un tratamiento recomendable para el control del tizón en condiciones comerciales de producción de rosa (Zadehdabagh *et al.*, 2020). En otra investigación, una cepa de *T. virens* redujo la severidad de *B. cinerea* en un 26% en rosa (Motlagh y Jafari, 2020).

Estudios recientes realizados in vitro evaluaron la compatibilidad de la cepa USTA-Tri004 del género *Tri-*

choderma con 8 fungicidas de uso común contra *B. cinerea* en el cultivo de rosa, encontrándose afinidad de esta cepa con las moléculas fenhexamida y procimidona. Estos resultados indican que la cepa USTA-Tri004 puede ser aplicada de forma preventiva, con aplicaciones alternadas de los mencionados fungicidas para el control del moho gris (García-Murillo, 2019).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la protección conferida por cepas de *Aureobasidium pullulans*, *Trichoderma harzianum*, *T. lignorum* y *Bacillus subtilis*, y dos cepas pertenecientes al género *Trichoderma* denominados USTA-Tri004 y USTA-Tri006 contra *B. cinerea* en tallos de rosa.

MATERIALES Y MÉTODOS

La evaluación de la actividad biocontroladora de las cepas de *Trichoderma* (USTA-Tri004 y USTA-Tri006) y de diferentes biofungicidas contra *B. cinerea* fue realizada en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Santo Tomás en la ciudad de Bogotá D.C., Colombia.

Aislamiento del patógeno

Muestras del hongo fitopatógeno fueron aisladas de flores con signos y síntomas compatibles con el moho gris de plantas de *Rosa* sp. de la variedad Vendela, procedentes de un cultivo tipo exportación en el municipio de Bojacá, del Departamento de Cundinamarca (Colombia).

Identificación de *Botrytis cinerea*

La identificación del hongo patógeno se realizó en la Corporación CORPOGEN en la ciudad de Bogotá D.C. Se inició con el aislamiento y la purificación del ADN del patógeno y, posteriormente, se realizó amplificación por PCR con los iniciadores ITS4 e ITS5 de la región genética denominada espaciador transcrito interno o ITS (del inglés, Internal Transcribed Spacer) del ADN ribosomal fúngico, lo que permitió determinar con un 99% de certeza que la especie del hongo fitopatógeno aislada correspondió a la especie *B. cinerea*.

Para evaluar el efecto de los cuatro biofungicidas y las cepas de *Trichoderma* (USTA-Tri004 y USTA-Tri006) contra el moho gris se emplearon tallos de *Rosa* sp. de la variedad Vendela con botones florales de 15 cm de longitud, provenientes de un cultivo de flores de exportación ubicada en el municipio de Bojacá (Departamento de Cundinamarca, Colombia). Cortándose en todos los tallos, los primeros 5 cm a partir de botón floral, siendo insertados en láminas de poliestireno (10 cm x

20 cm x 1 cm) con el fragmento más joven hacia arriba. Estas láminas fueron inmediatamente puestas en cámaras húmedas constituidas por contenedores de plásticos transparente (24 cm x 24 cm x 10 cm) los cuales disponían de una capa de agua destilada estéril de 1 cm de altura. Los contenedores fueron almacenados en el laboratorio a 20 °C hasta el momento del montaje del ensayo (80% Humedad Relativa).

Preparación de suspensiones del patógeno *Botrytis cinerea* y de las cepas de *Trichoderma*

Para *B. cinerea* y las cepas de *Trichoderma*, se establecieron tres réplicas, constituida cada una por una caja de Petri con el cultivo de cada hongo. A cada caja se le adicionó 12 ml de agua destilada estéril más polisorbato 80 (Tween 80, Merck), el cual fue previamente preparado a una concentración de 0,01%. Se realizó el raspado del micelio con la ayuda de un asa redonda. A partir de este volumen se preparó una suspensión de conidios tanto de *B. cinerea* como de las cepas de *Trichoderma*, llevándolas a un volumen final de 20 ml, las cuales fueron previamente filtradas a través de una tela de algodón estéril para obtener únicamente los conidios de cada hongo. La concentración de cada suspensión, se determinó por medio de un cámara de Neubauer ajustándose a 1×10^5 conidios ml^{-1} para *B. cinerea* (concentración previamente estandarizada en una prueba de patogenicidad en tallos de rosa de la variedad Vendela) y a 1×10^7 conidios ml^{-1} para las suspensiones de cada uno de las cepas de *Trichoderma* (García-Murillo, 2018).

Biofungicidas (Rhapsody®, Botector®, Foliguard® y Mycobac®), cepas (USTA-Tri004 y USTA-Tri006) y fungicidas (Sportak® y Cabo®)

Las cepas de *Trichoderma* USTA-Tri004 y USTA-Tri006 fueron suministradas por la colección de trabajo del programa de Administración Ambiental y de los Recursos naturales de la Universidad Santo Tomás de la ciudad de Bogotá, Colombia. Únicamente, las cepas del género *Trichoderma* (USTA-Tri004 y USTA-Tri006) y de *B. cinerea* se mantuvieron en cajas de Petri con medio agar Sabouraud (Oxoid) más la adición de rosa de bengala (Oxoid, 0,01 g l^{-1}). El hongo fitopatógeno y las cepas de los hongos antagonistas se incubaron en cámara de laboratorio a una temperatura constante de 20 °C, durante 15 d para *B. cinerea* y 12 d para las cepas de *Trichoderma*.

Los biofungicidas y los fungicidas Sportak® y Cabo® (controles comerciales) fueron preparados en agua

destilada estéril en las dosis recomendadas en sus respectivas fichas técnicas (Cuadro 1). La concentración seleccionada en este ensayo para la evaluación del antagonismo de las cepas USTA-Tri004 y USTA-Tri006 de *Trichoderma* contra *B. cinerea*, fue basada en un estudio previo realizado con cepas de *Trichoderma* nativas de Colombia, las cuales presentan altos niveles de con-

trol del moho gris, pero en un cultivo de fresa (Merchán-Gaitán *et al.*, 2014). En este caso las cepas USTA-Tri004 y USTA-Tri006 también son nativas, pero de la Sabana de Bogotá, lo cual puede incrementar sus posibilidades de adaptación en condiciones de cultivo de la rosa en esa misma región, al ser aplicadas en futuras evaluaciones en el nivel comercial.

Cuadro 1. Productos y cepas *Trichoderma* evaluados contra *Botrytis cinerea* en tallos de *Rosa sp.* variedad Vendela.

Producto	Ingrediente Activo	Cepa	Dosis ml-g l ⁻¹
Rhapsody®	<i>Bacillus subtilis</i>	QTS 713	7,5
Botector®	<i>Aureobasidium pullulans</i>	DSM 14940, DSM 14941	1,0 y 2,0
Foliguard®	<i>Trichoderma harzianum</i>	DSM 14944	1,0
Mycobac®	<i>Trichoderma lignorum</i>	-	1,2
Cepas	<i>Trichoderma spp.</i>	USTA-Tri004, USTA-Tri006	**
Sportak® (Control comercial 1)	Procloraz	-	0,8
Cabo® (Control comercial 2)	Fenhexamida	-	1,0

** Concentración de la suspensión ajustada de 1×10^7 conidios ml⁻¹.

Montaje de la prueba de protección en tallos de rosa

La prueba de protección se basó en el procedimiento propuesto por García-Murillo (2018). Se utilizó un diseño completamente al azar, con 25 tallos de rosa (repeticiones) por cada tratamiento incluyendo los controles. Los tallos fueron dispuestos sobre láminas de icopor e inmediatamente inoculados en su extremo superior con 25 µl de cada suspensión de los biofungicidas, las cepas de *Trichoderma* y los fungicidas comerciales (controles). El control patógeno (*B. cinerea*) también consistió en 25 repeticiones a las cuales sólo se le inoculó agua destilada estéril. A continuación, los tallos fueron nuevamente colocados dentro de las bandejas en las cámaras húmedas (80% Humedad Relativa) a 20 °C. Luego de 48 h de almacenaje en las cámaras, todos los tallos de los diferentes tratamientos y controles fueron inoculados con 25 µl de una suspensión de *B. cinerea* y nuevamente dispuestos en las cámaras húmedas a 20 °C. Cada 48 h se realizó la inspección visual de las muestras con el fin de registrar la longitud de la lesión y la longitud de la región que presentara esporulación producida por *B. cinerea* durante 14 días.

Análisis de los resultados

A partir de los valores de longitud de lesión y longitud de la región que presenta esporulación obtenidos se calculó el área bajo la curva del progreso enfermedad (ABCPE) de acuerdo al modelo epidemiológico propuesto por Campbell y Madden (1990, p. 193), de acuerdo con la Ecuación 1.

Ecuación 1

$$ABCPE = \sum_{i=1}^{n-1} [(y_i + y_{i+1}) / 2] * (t_{i+1} - t_i)$$

donde y_i es la medida de longitud de la lesión o y_i de la longitud de la región que presenta esporulación producidas por el moho gris en la i ésima observación, t es la unidad de tiempo (d) y n el número total de observaciones para cada tratamiento y control (fungicidas comerciales).

La medición del ABCPE permite observar el avance de los síntomas y signos del moho gris en los tallos de rosa para todos los tratamientos.

Los valores de ABCPE obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y una prueba de diferencia

mínima significativa de los promedios obtenidos para cada tratamiento y los controles.

También a partir de los resultados de las *ABCPE* de la longitud de lesión se calcularon los porcentajes de protección (*P*) contra *B. cinerea*, para cada tratamiento y los controles comerciales (García y Cotes, 2001), de acuerdo a la Ecuación 2.

$$\text{Ecuación 2} \quad P = \left[\frac{(D_p - D_a)}{D_p} \right] * 100$$

donde *D_p* corresponde al *ABCPE* promedio en el control patógeno y *D_a* es el promedio del *ABCPE* de cada tratamiento y control comercial.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los valores de área bajo la curva del progreso de la enfermedad (*ABCPE*) de *Botrytis cinerea* relacionados con longitud de lesión y longitud de la región que presenta esporulación en tallos de rosa, todos los tratamientos y controles comerciales determinaron una reducción significativa de la enfermedad en relación al daño registrado cuando los tallos sólo fueron inoculados con el patógeno (Cuadro 2). Sin embargo, el tratamiento correspondiente a la aplicación del ingrediente activo *B. subtilis* presentó valores *ABCPE* significativamente mayores, tanto de longitud de lesión (1384 mm) como de longitud de la región que presenta esporulación

(630 mm), en relación con los demás tratamientos incluyendo los fungicidas correspondientes al control comercial 1 y 2, respectivamente (Cuadro 2). En el caso del ingrediente activo *T. lignorum* y la cepa USTA-Tri006 se observó un valor de *ABCPE* de lesión de 536 mm y de 511 mm respectivamente, pero ningún valor de *ABCPE* correspondiente al área de esporulación por el patógeno, por lo que la inhibición de estos tratamientos frente a *B. cinerea* fue parcial.

Los demás tratamientos y los controles comerciales 1 y 2 correspondientes a la aplicación de los fungicidas generaron una inhibición total de la esporulación de *B. cinerea* en los tallos de rosa (Cuadro 2).

A pesar que la aplicación del ingrediente activo *T. lignorum*; la cepa de *Trichoderma* USTA-Tri006 y el ingrediente activo *T. harzianum* inhiben la esporulación del fitopatógeno, con estos mismos tratamientos se observó un reducido desarrollo de *ABCPE* de lesión producido por el moho gris (Cuadro 2). Los tallos de rosa a los que se les aplicó el ingrediente activo *A. pullulans* (Dosis 1 y 2), la cepa de *Trichoderma* USTA-Tri004, y los fungicidas (controles comerciales 1 y 2), no presentan lesiones ni áreas con esporulación; lo cual demuestra la alta actividad protectora de los anteriores tratamientos contra *B. cinerea*.

La aplicación de los ingredientes activos *T. harzianum*, *A. pullulans* (en dosis 1 g l⁻¹ y 2 g l⁻¹), la cepa USTA-Tri004 y los Controles comerciales 1 y 2 presentan

Cuadro 2. Valores de área bajo la curva del progreso enfermedad (*ABCPE*) correspondientes a la longitud de la lesión y la longitud de la región que presenta esporulación producida por *B. cinerea* en tallos de *Rosa* sp. variedad Vendela.

Tratamiento	<i>ABCPE</i> (lesión mm ⁻¹)	<i>ABCPE</i> (esporulación mm ⁻¹)
Control patógeno	3731,0 a	2283,0 a
<i>B. subtilis</i>	1384,0 b	630,0 b
<i>T. lignorum</i>	536,0 c	0,0 c
USTA-Tri006	511,0 c	0,0 c
<i>T. harzianum</i>	12,0 d	0,0 c
<i>A. pullulans</i> (Dosis 1)	0,0 d	0,0 c
<i>A. pullulans</i> (Dosis 2)	0,0 d	0,0 c
USTA-Tri004	0,0 d	0,0 c
Procloraz (Control comercial 1)	0,0 d	0,0 c
Fenhexamida (Control comercial 2)	0,0 d	0,0 c

Los valores de *ABCPE* se obtuvieron en base a la Ecuación 1. Valores que presentan la misma letra no presentan diferencias significativas, de acuerdo con la prueba de rango múltiple de diferencia mínima significativa ($p \leq 0,05$).

un valor cercano al 100% de protección contra el moho gris en tallos de rosa. De forma similar, los tallos inoculados con la cepa USTA-Tri006 y el ingrediente activo *T. lignorum* presentaron un porcentaje medio alto de protección contra *B. cinerea* siendo (86%); finalmente para el caso ingrediente activo *B. subtilis*, sólo se alcanza un porcentaje de protección medio del 63% en el mismo sistema de evaluación (Cuadro 3).

De acuerdo con los resultados presentados, el producto ingrediente activo *B. subtilis* (cepa QST 713) reduce en menor grado los síntomas y signos producidos por *B. cinerea*, que el resto de tratamientos (Cuadros 2 y 3). Esto contrasta con otra investigación realizada con el mismo biofungicida pero en pepino cohombro (*Cucumis sativus* L.) bajo invernáculo, donde se encontró una reducción significativa del mildéu polvoso de hoja, causada por *Podosphaera xanthii*, la pudrición de raíz, causada por *Pythium aphanidermatum*, y la marchitez vascular de tallos, causada por *Fusarium oxysporum* (Punja et al., 2019). La reducida actividad protectora del ingrediente activo *B. subtilis* contra *B. cinerea* en los tallos de rosa puede ser explicada por la conformación del pato-sistema, ya que cada uno de estos sistemas planta patógeno, puede presentar diferentes grados de interacciones que son afectadas por las condiciones ambientales y a la presencia de otros microorganismos, pudiendo reducir la actividad antagónica de la bacteria (Fira et al., 2018).

Por otra parte, la inhibición de síntomas y signos del moho gris observada con la aplicación del ingrediente activo *A. pullulans* en tallos de *Rosa* sp. variedad Vendela

Cuadro 3. Porcentajes de protección (*P*) contra *Botrytis cinerea* en tallos de *Rosa* sp. variedad Vendela obtenidos con cuatro biofungicidas, dos cepas de *Trichoderma* y dos productos fungicidas utilizados como control comercial.

Ingrediente activo o cepa	Porcentaje de protección (<i>P</i>)
<i>B. subtilis</i>	63,0
<i>T. lignorum</i>	86,0
USTA-Tri006	86,0
<i>T. harzianum</i>	99,6
<i>A. pullulans</i> [Dosis 1 (1g l ⁻¹)]	100,0
<i>A. pullulans</i> [Dosis 2 (2g l ⁻¹)]	100,0
USTA-Tri004	100,0
Procloraz (Control comercial 1)	100,0
Fenhexamida (Control comercial 2)	100,0

Los valores de *P* se obtuvieron sobre la base de la Ecuación 2.

(Cuadros 2 y 3) es de una magnitud comparable a la observada cuando se aplica este mismo biofungicida en frutos de arándanos contra *B. cinerea*, en donde se observa también inhibición del moho gris (Abbey et al., 2020). Sin embargo, el manejo de la enfermedad en los frutos de arándano resulta consistente en el tiempo, si se combina con la aplicación de fungicidas de síntesis química en un esquema de manejo integrado de enfermedades (Abbey et al., 2020). El antagonismo observado por *A. pullulans* contra *B. cinerea* probablemente puede ser explicado por la competencia por nutrientes y espacio como modos de acción encontrados con dos cepas L1 y L8 de *A. pullulans* contra *Monilinia laxa* en frutos de melocotón (Di Francesco et al., 2018).

En el presente trabajo, tanto las cepas USTA-Tri004 y USTA-Tri006, como los ingredientes activos *T. lignorum* y *T. harzianum* determinaron una reducción significativa del desarrollo del moho gris en tallos de *Rosa* sp. variedad Vendela (Cuadros 2 y 3), lo cual coincide con resultados previamente obtenidos en un ensayo con las cepas BV1 y BC1 del género *Trichoderma* por Marín-Chacón et al. (2017) en mora (*Rubus ulmifolius*). Estos autores observaron en un ensayo in vitro una reducción de crecimiento de *B. cinerea* de hasta un 70% y un número significativamente menor de frutos de mora enfermos en un ensayo realizado en campo. La inhibición de *B. cinerea* por parte de los productos mencionados puede deberse a que algunas especies de *Trichoderma* presentan cepas altamente competidoras por nutrientes y espacio o son micoparásitas, lo cual puede incrementar su antagonismo y agresividad frente a algunos patógenos de las plantas (Mesa Vanegas et al., 2020). En el presente trabajo, la cepa de *Trichoderma* USTA-Tri004 fue aplicada sin excipientes en una formulación que asegurase su estabilidad en almacenamiento y su supervivencia bajo las condiciones ambientales de cultivo de la rosa. A pesar de este hecho, se observó en este ensayo inhibición del crecimiento de *B. cinerea* en tallos de rosa (Cuadro 2). Esto difiere con los resultados obtenidos en un estudio realizado con plantas de cacao bajo condiciones productivas, donde se aplicó la cepa PR11 de *Trichoderma asperellum* con y sin formulación en las mazorcas (Mbarga et al., 2020). Estas aplicaciones determinaron una baja inhibición de la enfermedad causada por *Phytophthora megakarya* al ser aplicada sin formulación; mientras que la aplicación de esta misma cepa con una formulación oleosa causó una reducción significativa de la enfermedad.

Sin embargo, los resultados obtenidos mediante la

evaluación de los ingredientes activos *T. lignorum* y *T. harzianum* en tallos de rosa pueden sugerir que las condiciones experimentales de laboratorio no necesariamente permiten detectar el efecto de la formulación sobre la actividad biocontroladora de los biofungicidas mencionados, ya que las condiciones de producción en campo están sujetas a cambios en la temperatura, humedad, radiación UV, principalmente. Estas variaciones ambientales pueden reducir la viabilidad de los microorganismos y antagonistas, lo cual puede ser mitigado por acción de las formulaciones (Santos *et al.*, 2012). En el presente trabajo, la aplicación de microorganismos, biofungicidas y fungicidas se efectuó de forma preventiva, lo cual es útil para estudios de tipo exploratorio que permitan la selección inicial de cepas con niveles altos de antagonismos hacia *B. cinerea*. Futuros trabajos deberían constatar el efecto de los materiales que mostraron el mejor comportamiento en condiciones productivas de rosa a campo, así como evaluar la eficacia de estos productos bajo diferentes tipos de formulación.

Aunque en el presente trabajo se observó inhibición de *B. cinerea* en tallos de rosa atribuida a la aplicación preventiva del ingrediente activo *A. pullulans* y la cepa USTA-Tri004 (Cuadro 2), la incorporación de estos para el control del moho gris en condiciones de producción de la rosa bajo invernáculo debe ser evaluada en el marco de un programa de manejo integrado de *B. cinerea*. Esta consideración es especialmente pertinente para la cepa de *Trichoderma* USTA-Tri004, ya que esta presenta antecedentes de compatibilidad con las moléculas fenhexamida y procimidona comúnmente utilizados para el control de este fitopatógeno en rosa en la Sabana de Bogotá (García-Murillo, 2019).

CONCLUSIONES

El ingrediente activo correspondiente a *Bacillus subtilis* (cepa QST 713) presentó una protección media contra *Botrytis cinerea* en tallos de *Rosa* sp. variedad Vendela. En cambio, la cepa USTA-Tri006 y el ingrediente activo *Trichoderma lignorum* aunque no redujeron totalmente los síntomas producidos por *B. cinerea*, si inhiben totalmente su esporulación, presentando una protección media alta contra este fitopatógeno. Finalmente, la cepa de *Trichoderma* USTA-Tri004 y el ingrediente activo *Aureobasidium pullulans* (cepas DSM 14940, DSM 14941) presentaron total inhibición de crecimiento de *B. cinerea*; de forma similar, el ingrediente activo *T. harzianum* (cepa DSM 14944) presentó una inhibición casi total del hongo patógeno; sin embargo, estos últimos tres tratamientos, también presentan inhibición total de la esporulación de *B. cinerea*, con una protección alta contra el moho gris en tallos de rosa. La contribución que estos productos en el marco de un programa integrado de manejo de enfermedades podrían permitir no sólo disminuir el efecto perjudicial de este patógeno sobre la producción de los cultivos de rosa, sino también evitar o reducir la dispersión del fitopatógeno, logrando mantener sus niveles poblacionales relativamente bajos. Los resultados presentados en este trabajo permiten recomendar la realización de evaluaciones en condiciones semicomerciales y comerciales de invernáculo con los tratamientos que presentaron alta protección contra el moho gris (Botector®, Foliguard® y la cepa USTA-Tri004) con la finalidad de medir la eficacia de sus efectos con y sin aplicación de otros productos de síntesis química.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbey, J. A., Percival, D., Asiedu, S. K., Prithiviraj, B. y Schilder, A. (2020). Management of *Botrytis* blossom blight in wild blueberries by biological control agents under field conditions. *Crop Protection*, 131 (105078). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105078>
- Bertolini, P., Baraldi, E., Mari, M., Trufelli, B. y Lazzarin, R. (2003). Effects of long-term exposure to high-CO₂ during storage at 0 °C on biology and infectivity of *Botrytis cinerea* in red chicory. *Journal of Phytopathology*, 151(4), 201-207. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00706.x>
- Cámara de Comercio de Bogotá. (2015). *Flores & follajes*. Recuperado de <https://www.ccb.org.co/content/download/13733/175129/version/1/file/Flore++Follajes.pdf>
- Campbell, C. L. y Madden, L. V. (1990). *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. Nueva York, EE.UU.: John Wiley & Sons.
- Carisse, O., Tremblay, D. M. y Lefebvre, A. (2014). Comparison of *Botrytis cinerea* airborne inoculum progress curves from raspberry, strawberry and grape plantings. *Plant Pathology*, 63, 983-993. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.12192>
- De Senna, A. y Lathrop, A. (2017). Antifungal Screening of Bioprotective Isolates against *Botrytis cinerea*, *Fusarium pallidoroseum* and *Fusarium moniliforme*. *Fermentation*, 3(4), 53. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation3040053>
- Di Francesco, A., Mari, M., Ugolini, L. y Baraldi, E. (2018). Effect of *Aureobasidium pullulans* strains against *Botrytis cinerea* on kiwifruit during storage and on fruit nutritional composition. *Food Microbiology*, 72, 67-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.11.010>
- Droby, S., Wisniewski, M., Macarasin, D. y Wilson, C. (2009). Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? *Postharvest Biology and Technology*, 52, 137-145. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.11.009>

- Fira, D., Dimkić, I., Berić, T., Lozo, J. y Stanković, S. (2018). Biological control of plant pathogens by *Bacillus species*. *Journal of Biotechnology*, 285, 44-55. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.07.044>
- García-Murillo, P. G. (2019). Compatibilidad de un aislamiento del género *Trichoderma* con ocho fungicidas utilizados en el cultivo de rosa. *Redes de Ingeniería*, 10(1), 5-12. DOI: <https://doi.org/10.14483/2248762X.15091>
- García Murillo, P. G. (2018). Evaluación de tres desinfectantes contra el moho gris causado por *Botrytis cinerea* en el cultivo de rosa. *Redes de Ingeniería*, 9(1), 39-45. DOI: <https://doi.org/10.14483/2248762X.13882>
- García, P. G. y Cotes, A. M. (2001). Búsqueda de alternativas de control biológico de *Rhizopus stolonifer* en la post-cosecha de tomate. *Fitopatología colombiana*, 25(1), 39-47.
- Marín-Chacón, M. A., Rivera-Coto, G., Villalobos-Moya, K., Orozco-Rodríguez, R. y Orozco-Cayasso, S. (2017). Evaluación de hongos antagonistas de *Botrytis cinerea* Pers., en plantaciones de mora, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 41(1), 7-18. DOI: <https://doi.org/10.15517/rac.v41i1.29737>
- Mbarga, J. B., Begoude, B. A. D., Ambang, Z., Meboma, M., Kuate, J., Ewbank, W. y Hoopen, G. M. (2020). Field testing an oil-based *Trichoderma asperellum* formulation for the biological control of cacao black pod disease, caused by *Phytophthora megakarya*. *Crop Protection*, 132. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105134>
- Merchán-Gaitán, J. B., Ferrucho, R. L. y Álvarez-Herrera, J.G. (2014). Efecto de dos cepas de *Trichoderma* en el control de *Botrytis cinerea* y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* sp.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 8(1), 44-56.
- Mesa Vanegas, A. M., Calle Osorno, J. y Marín Pavas, D.A. (2020). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actualidades Biológicas*, 41(111), 32-44. DOI: <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02>
- Mora, B. (2005). Evaluación de la eficacia biológica de los fungicidas BAS 510 (boscalid) y BAS 516 (boscalid + pyraclostrobin) para el control de *Botrytis cinerea* en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). *Alcances Tecnológicos*, 3(1), 25-35. DOI: <https://doi.org/10.35486/at.v3i1.123>
- Motlagh, M. R. S. y Jafari, N. (2020). Biological control of *Botrytis cinerea*, the causal agent of rose gray mold disease by antagonistic fungi. *International Journal of Pest Management*, 1-8. DOI: <https://doi.org/10.1080/09670874.2020.1807654>
- Punja, Z. K., Tirajoh, A., Collyer, D. y Ni, L. (2019). Efficacy of *Bacillus subtilis* strain QST 713 (Rhapsody) against four major diseases of greenhouse cucumbers. *Crop Protection*, 124. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104845>
- Santos, A., García, M., Cotes, A. M. y Villamizar, L. (2012). Efecto de la formulación sobre la vida útil de bioplaguicidas a base de dos aislamientos colombianos de *Trichoderma koningiopsis* Th003 y *Trichoderma asperellum* Th034. *Revista Iberoamericana de Micología*, 29(3), 150-156. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.riam.2011.11.002>
- Sautua, F. J., Baron, C., Pérez-Hernández, O. y Carmona, M. A. (2019). First report of resistance to carbendazim and procymidone in *Botrytis cinerea* from strawberry, blueberry and tomato in Argentina. *Crop Protection*, 125, 2017-2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104879>
- Zadehdabagh, G., Karimi, K., Rezabaigi, M. y Ajamgard, F. (2020). An Attempt at Biological Control of Blossom Blight of Rose Caused by *Botrytis cinerea* Using some Local *Trichoderma* spp. Strains, *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 55(1), 27-34.