

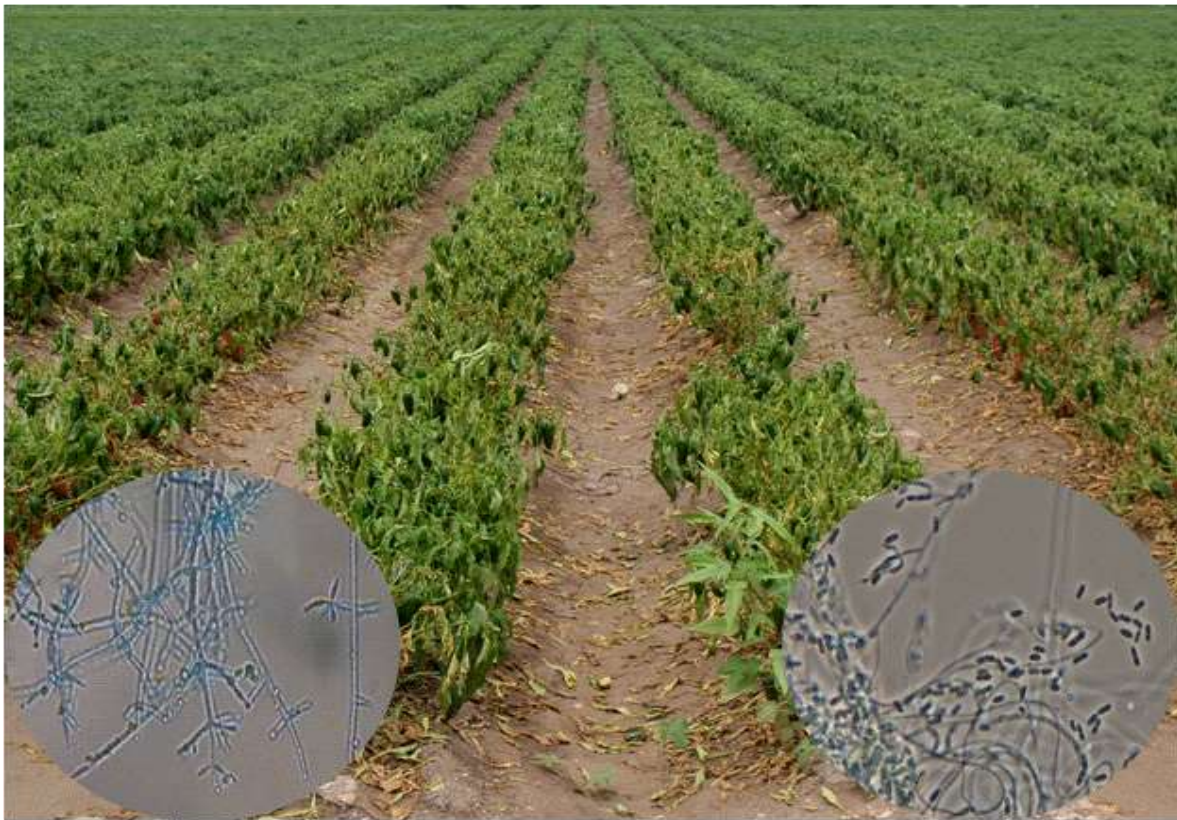


FUNDACION
PRODUCE
CHIHUAHUA

CENTRO DE INVESTIGACION
EN RECURSOS NATURALES

CONTROL BIOLÓGICO DE LA CENICILLA DEL CHILE

Leveillula taurica



CESAR GUIGON LOPEZ



LA ENFERMEDAD

La “cenicilla” es uno de los principales problemas fitosanitarios en el cultivo del chile en Chihuahua. Se conoce desde hace más de una década y ataca los diferentes tipos que se cultivan en las diferentes zonas productoras del Estado. Se manifiesta a mediados de temporada y hacia el final del ciclo de cultivo la incidencia de plantas enfermas alcanza el 100%. Conforme avanza el ciclo la severidad suele ser más fuerte y la enfermedad se vuelve difícil de controlar.

Los signos y síntomas incluyen el crecimiento del hongo blanco en las hojas y el desarrollo de lesiones cloróticas, algunas de las cuales se vuelven necróticas. Las hojas afectadas tienden a caerse de la planta causando defoliación, quemaduras de frutos por el sol, reducción de la capacidad fotosintética de la planta y en consecuencia reducción del tamaño de frutos. A diferencia de otras cenicillas, *L. taurica* en chiles desarrolla parte de su ciclo de vida dentro de las hojas. Las conidias germinan y el tubo germinativo desarrollado crece en la superficie de las hojas hasta encontrar algún estoma a través del cual penetran en la planta. La cenicilla puede llegar a ser altamente destructiva en campo abierto y en invernaderos.



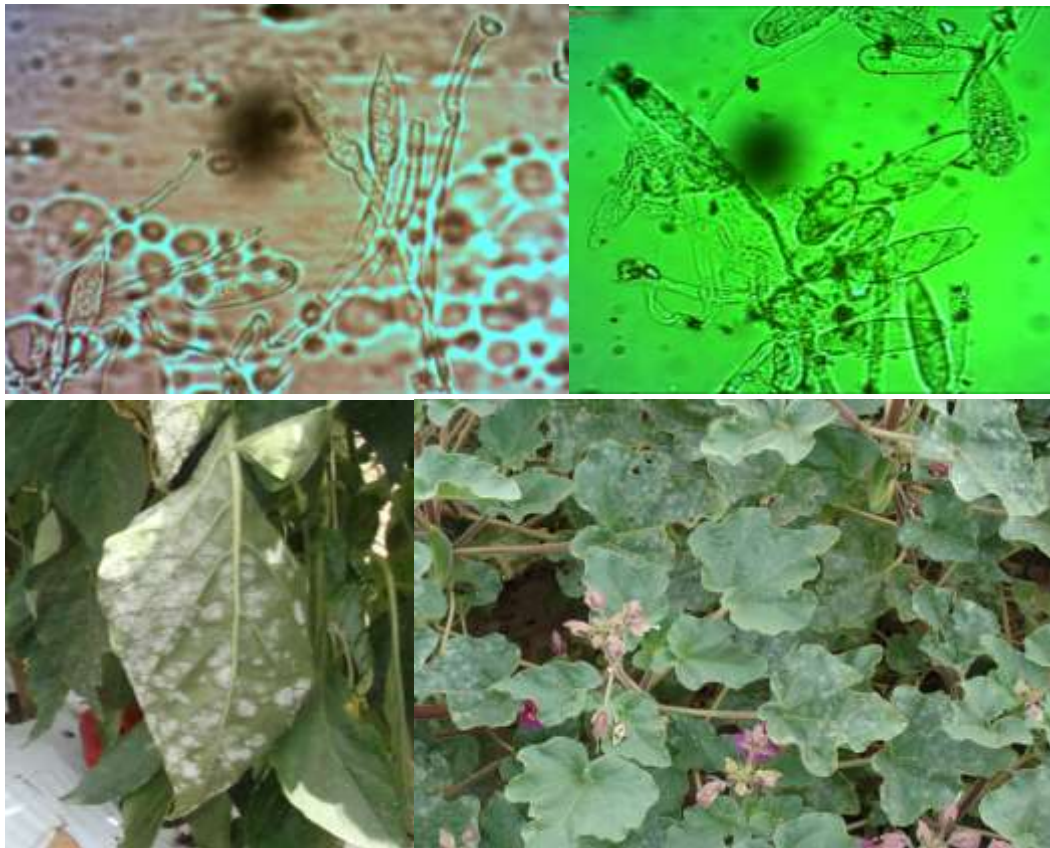
Síntomas y signos de cenicilla en plantas de chile jalapeño.

EL PATOGENO (*Leveillula taurica*)

El hongo *Leveillula taurica* (*Oidiopsis taurica*) crece solamente en tejidos vivos.

Infecta más de 1000 especies de plantas de 74 familias diferentes, incluyendo tomate, berenjena, chile, algodón, cebolla, malezas, árboles y arbustos de Leguminosae, Malvaceae y Euphorbiaceae (Goldberg, 2000; Tuttle, 2001; Smith et al., (1999). En California se ha detectado en tomate, chile, algodón, alcachofa, cebolla y seis diferentes malezas (Tuttle, 2001). En Chihuahua, el patógeno afecta todos los tipos de chile que se cultivan. También se ha detectado en plantas de garambullo (*Proboscidea parviflora*), planta arvense que crece en el interior o en la periferia de los cultivos de chile árbol en la región de Salaiques.

Puede causar enfermedad en una amplia gama de condiciones ambientales. Sus características estructurales, morfológicas y bioquímicas le permiten, resistir condiciones adversas que dificultan su control. Su temperatura óptima de crecimiento va de 15 a 25-27°C, pero crece en el rango de 4 a 35°C, con una humedad mayor que 85 por ciento. Bajo las condiciones favorables el hongo se reproduce rápidamente y las esporas pueden germinar en 24-48 horas (Goldberg, 2004). Los daños son mayores en zonas áridas y regiones de cultivo semi-áridas. En Chihuahua, pruebas preliminares realizadas en Salaiques con chiles jalapeño, árbol y chilaca indican que los síntomas y signos se desarrollan en un lapso de 5 días.



Imágenes al microscopio del hongo *Leveillula taurica* aislado de plantas de chile árbol y garambullo (arriba). Presencia del hongo en hojas de chile jalapeño y de garambullo (abajo).

EL CONTROL

Los métodos más atractivos para el control de las cenicillas son el uso de variedades resistentes y la aplicación de fungicidas sintéticos.



La disponibilidad de variedades resistentes no siempre se logra y en el caso particular del Chile, no existen en Chihuahua variedades comerciales disponibles.

El control químico comúnmente emplea fungicidas sintéticos como Tebuconazol+Trifloxystrobin, Azoxistrobin+difenoconazole, Propiconazol y sales minerales como el silicato de potasio. Su uso es intensivo y en algunos casos con baja eficacia. Aunado a ello, es preocupante que en algunas regiones productoras, recientemente se ha reportado la resistencia a las estrobilurinas (Fernández *et al.*, 2004). El azufre también se ha utilizado, sin embargo puede tener efectos adversos sobre insectos benéficos nativos o introducidos para el control de insectos (Tsrer *et al.*, 2004).

En años recientes, los residuos tóxicos se han vuelto el mayor foco de atención en las acciones legislativas que limitan y regulan el uso de plaguicidas. De igual forma, los consumidores y las políticas de mercado demandan menor empleo de plaguicidas químicos sintéticos para incrementar la calidad y seguridad de los alimentos a lo largo de la cadena alimentaria, sin que esto involucre incrementar los costos a los productores y consumidores.

Todo esto ha propiciado que se emprenda la evaluación de alternativas biológicas y su integración dentro de las estrategias contra cenicillas con el fin de reducir los residuos químicos en los frutos (Pertot *et al.*, 2004).



ALTERNATIVAS BIORACIONALES DE CONTROL

ALTERNATIVA	MODO DE ACCION
<i>Ampelomyces quisqualis</i>	Control biológico (micoparasitismo)
<i>Trichoderma harzianum</i>	Control biológico (antibiosis)
<i>Bacillus subtilis</i>	Control biológico (antibiosis)
Azufre, cobre	Interfiere con la respiración celular
Bicarbonato (sodio y potasio)	Colapso de hifas
Aceites minerales Saf-T-Side, JMS Stylet	Estrangulamiento de hifas
Aceite naturales neem, jojoba, oliva	
Jabón agrícola	
Extractos vegetales	

Aceites. Funcionan bien en infecciones bajas o moderadas. Riesgos a temperaturas > 32 °C y estrés hídrico. Realizar las aplicaciones por lo menos 2 semanas después del azufre. Ejemplos de aceites Saf-T-Side, JMS Stylet, neem, jojoba, oliva, banole, agroil.

Azufre y Cobre. El control es mejor cuando se aplican antes o a los primeros síntomas.

Azufre, tiene efectos adversos sobre insectos benéficos nativos o introducidos para el control de insectos.

Cobre muestra baja eficiencia. Es riesgo aplicar a temperaturas mayores a 32 °C. Tiene efectos nocivos sobre la piel y ojos del ser humano. Posibles efectos indeseables sobre plantas y frutos.

Bicarbonatos (Sodio y Potasio). Existen diferentes preparaciones comerciales. Pueden dañar las plantas, por ello es recomendable realizar pruebas preliminares para ajustar la aplicación. Puede tener efectos nocivos sobre la estructura del suelo, por lo cual es deseable que su uso no sea muy frecuente.

EL CONTROL BIOLÓGICO

Una estrategia reciente para el control biológico de enfermedades de las plantas es el biocontrol dual, que implica el empleo de microorganismos antagonistas de insectos y patógenos (Brand *et al.*, 2009; Ownley, 2010). Entre estos se ubican hongos como:

Beauveria bassiana (Bals.-Criv.) Vuill.
(Ascomycota: Hypocreales)

Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin
(Ascomycota: Hypocreales)

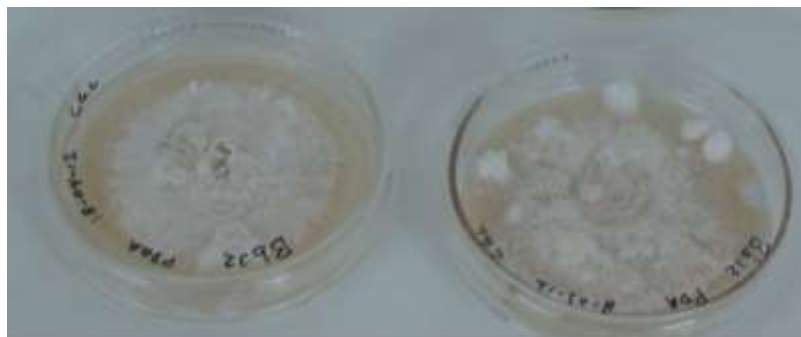
Trichoderma harzianum Rifai (Ascomycota: Hypocreales).



B. bassiana es un habitante del suelo de distribución cosmopolita. Ataca un amplio rango de insectos y ácaros (De Luca *et al.*, 2004) y hay evidencia sobre su potencial como microorganismo de control dual (Ownley, 2010).

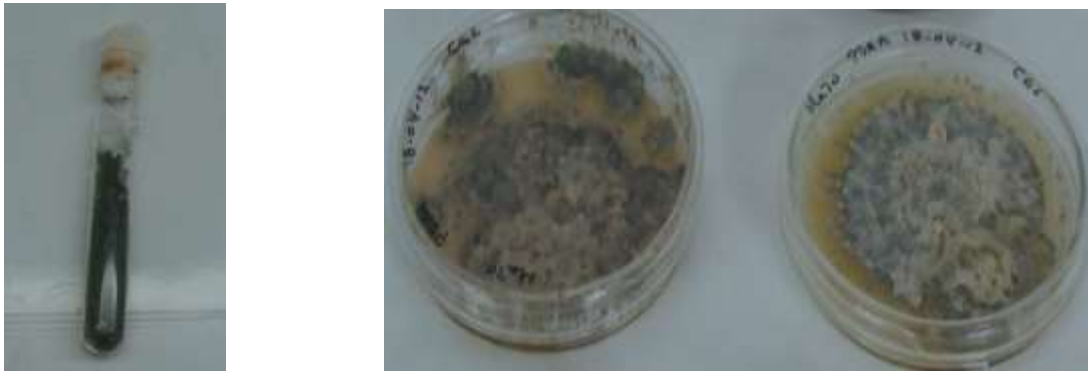
Inhibe el crecimiento de diferentes fitopatógenos mediante la producción de metabolitos bioactivos, como las beauvericina, bassianolida y oosporeina que limitan el crecimiento de fitopatógenos (Oller *et al.*, 2005). También induce resistencia sistémica cuando crece endofíticamente sobre las plantas.

Se ha reportado antibiosis y micoparasitismo de *B. bassiana* contra *Armillaria mellea* y *Penicillium digitatum* (De Luca *et al.*, 2004) y sobre *Pythium myriotylum*. También se reporta la competencia por espacio contra *Rhizoctonia solani* (Ownley (2010).



M. anisopliae tiene capacidad patogénica ampliamente reconocida sobre insectos, aunque se dispone de poca información sobre su actividad contra microorganismos fitopatógenos.

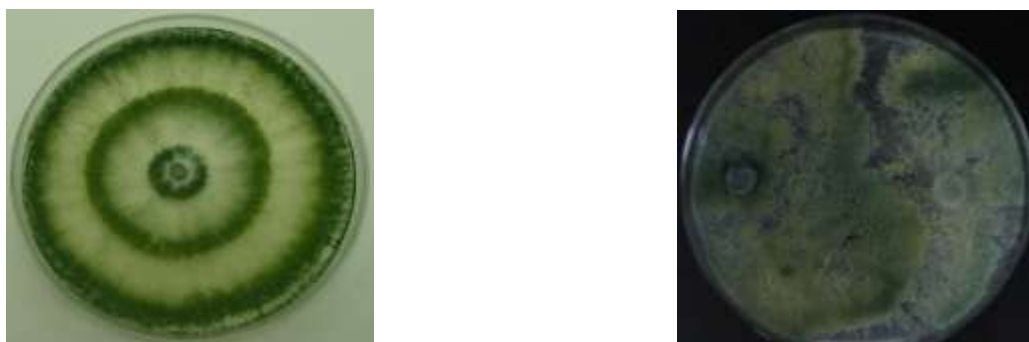
Estudios recientes han demostrado la producción de enzimas hidrolíticas, proteínas de la pared celular, toxinas, proteasas, péptidos antimicrobianos y otras moléculas que sugieren que esta especie posee la habilidad para atacar diferentes microorganismos (Freimoser *et al.*, 2005). Estos estudios también demostraron que existen similitudes entre el metabolismo de *M. anisopliae* y especies de *Trichoderma*.



Trichoderma spp. son patogénicos contra insectos y nematodos, así como antagonista de diversos agentes fitopatógenos. Sus principales mecanismos de acción incluyen antibiosis, micoparasitismo, competencia por nutrientes y espacio e inducción de mecanismos de resistencia en las plantas (Hartman, 2006).

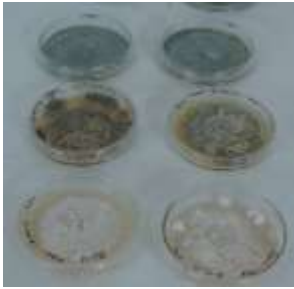
T. harzianum T39, controló la cenicilla de la fresa causada por *Sphaerotheca macularis* f.sp. *fragariae* (Pertot *et al.*, 2004) aunque su eficiencia varía con la ubicación geográfica de la plantación, el ambiente y tiempo de la aplicación.

Para el control de *L. taurica* se han evaluado las especies *T. viride*, *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. longiflorum* and *T. koningii* (Deore y Sawant, 2001). *T. viride* fue más efectivo en cuanto a control y mayor altura de planta, en tanto que *T. harzianum* mostró los mayores incrementos en los rendimientos. *T. viride* y *T. harzianum* reducen la germinación de las conidias de *L. taurica* en invernadero y campo (Sudha y Lakshmanan, 2009).



AVANCES EN EL BIOCONTROL DE LA CENICILLA

Reproducción de los hongos benéficos para la formulación del biofungicida que se aplica en campo.



Producción del pre-inoculo de cada hongo en laboratorio



Inoculación de cada hongo en arroz



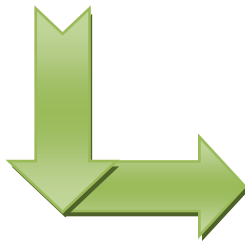
Incubación del arroz



Formulación de cada hongo en agua destilada



Cosecha de esporas desarrolladas en arroz



Aplicación en campo

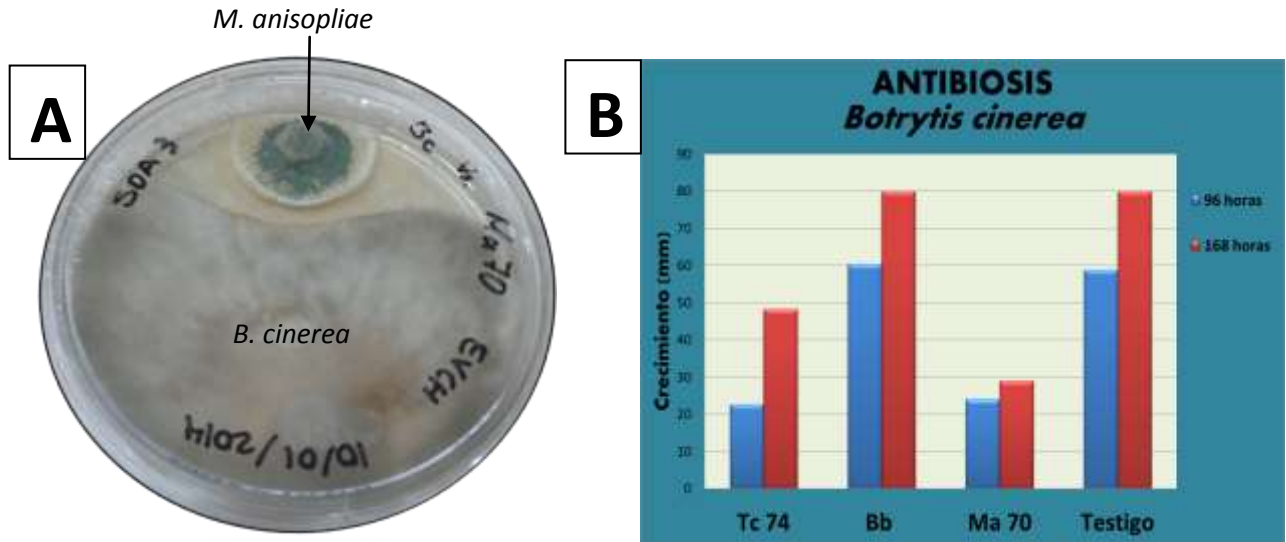


ESTUDIOS EN LABORATORIO

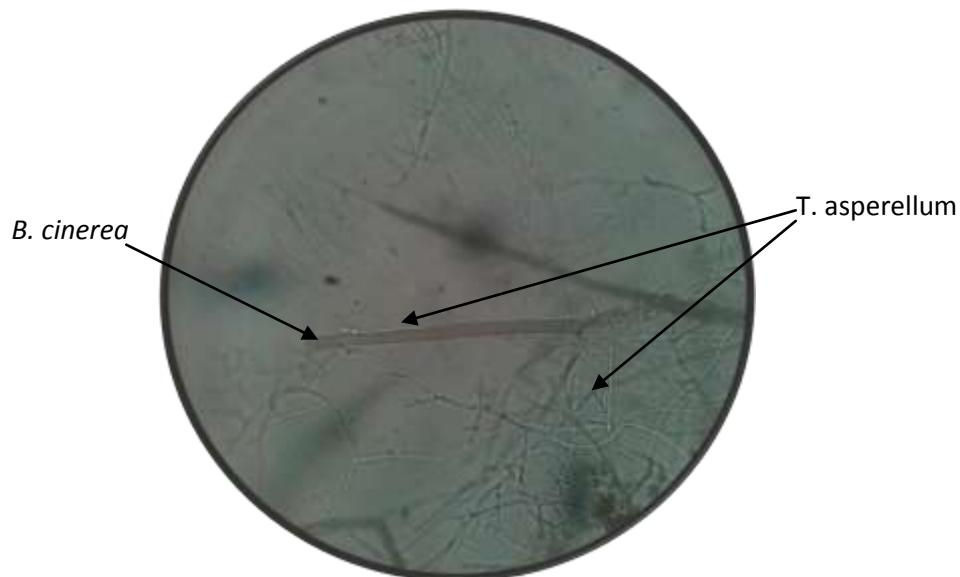
Antibiosis y Micoparasitismo

Se ha determinado que *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *T. asperellum* tienen diferente capacidad de inhibir el crecimiento y desarrollo de los organismos fitopatógenos mediante antibiosis y micoparasitismo.

Esta actividad antagónica se observó contra los hongos fitopatógenos *Leveillula taurica*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium spp.*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*.



Antibiosis de *M. anisopliae* sobre *Botrytis cinerea* (A). Comparación de la actividad antibiótica de *T. asperellum* (TC74), *B. bassiana* (Bb) y *M. anisopliae* (Ma) sobre *B. cinerea* (B).

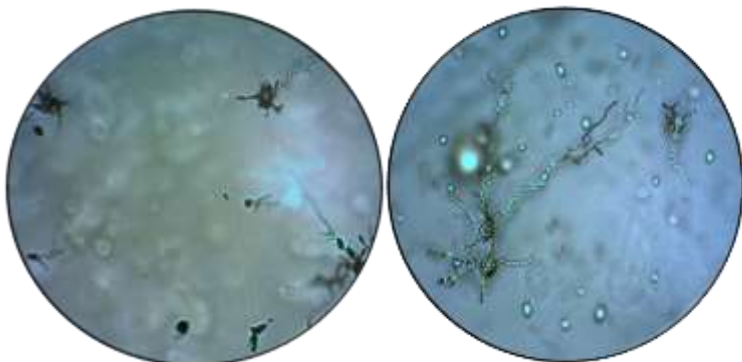


Micoparasitismo de *T. asperellum* sobre *B. cinerea*.

Inhibición de la germinación de las esporas de hongos fitopatógenos

Los hongos antagonistas reducen la germinación de las esporas de hongos que causan enfermedades foliares en plantas de Chile.

Alternaria alternata (Tizón)



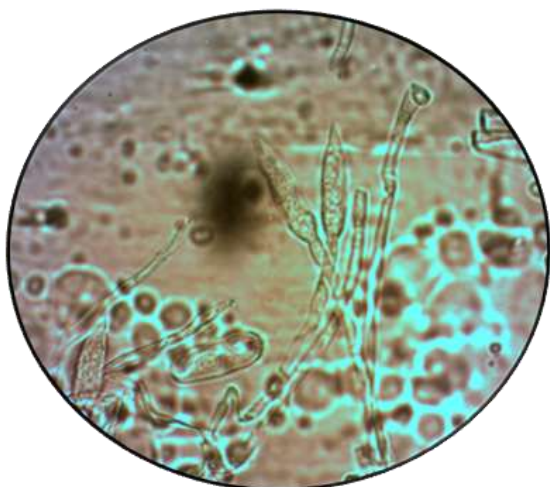
Esporas germinando (vista al microscopio)



Bb= *B. bassiana*; Ma= *M. anisopliae*; Ta= *T. asperellum*.

1, 10, 35= Concentración del extracto del hongo antagonista.

Leveillula taurica (Cenicilla)



Esporas germinando (vista al microscopio)

Germinación de las esporas

Tratamiento	Horas de incubación
	35
<i>T. asperellum</i>	
Extracto 3	15 b
Extracto 5	14 b
Extracto 10	14 b
<i>M. anisopliae</i>	
Extracto 3	39 a
Extracto 5	35 a
Extracto 10	61 a
Control	sin 26 a
extracto	

Valores seguidos de letra "a" son estadísticamente diferentes a valores con letra "b".

Colonización de plantas de chile por las especies antagonistas.

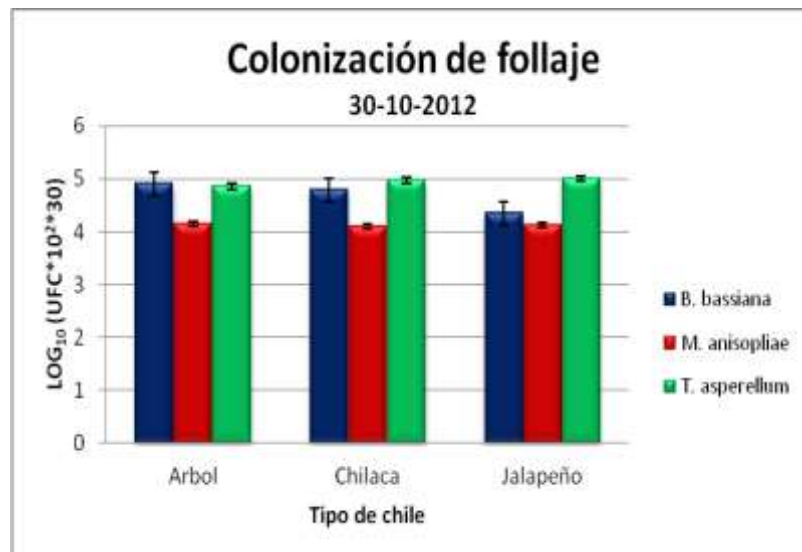
Los hongos antagonistas colonizan bien el follaje de las plantas de chile jalapeño, chilaca y árbol.

Esto indica que se pueden aplicar con la confianza de que se establecerán y podrán ejercer su acción biocontroladora.

En promedio, las poblaciones de *T. asperellum* y *B. bassiana* son mayores que las de *M. anisopliae*

$$T. asperellum 5 \times 10^4 = B. bassiana 3 \times 10^4 > M. anisopliae 1.0 \times 10^4$$

Determinar la colonización es importante ya que nos permite ajustar aspectos de concentración del bioplaguicida, dosis y forma de aplicación.



Biocontrol de la cenicilla en campo

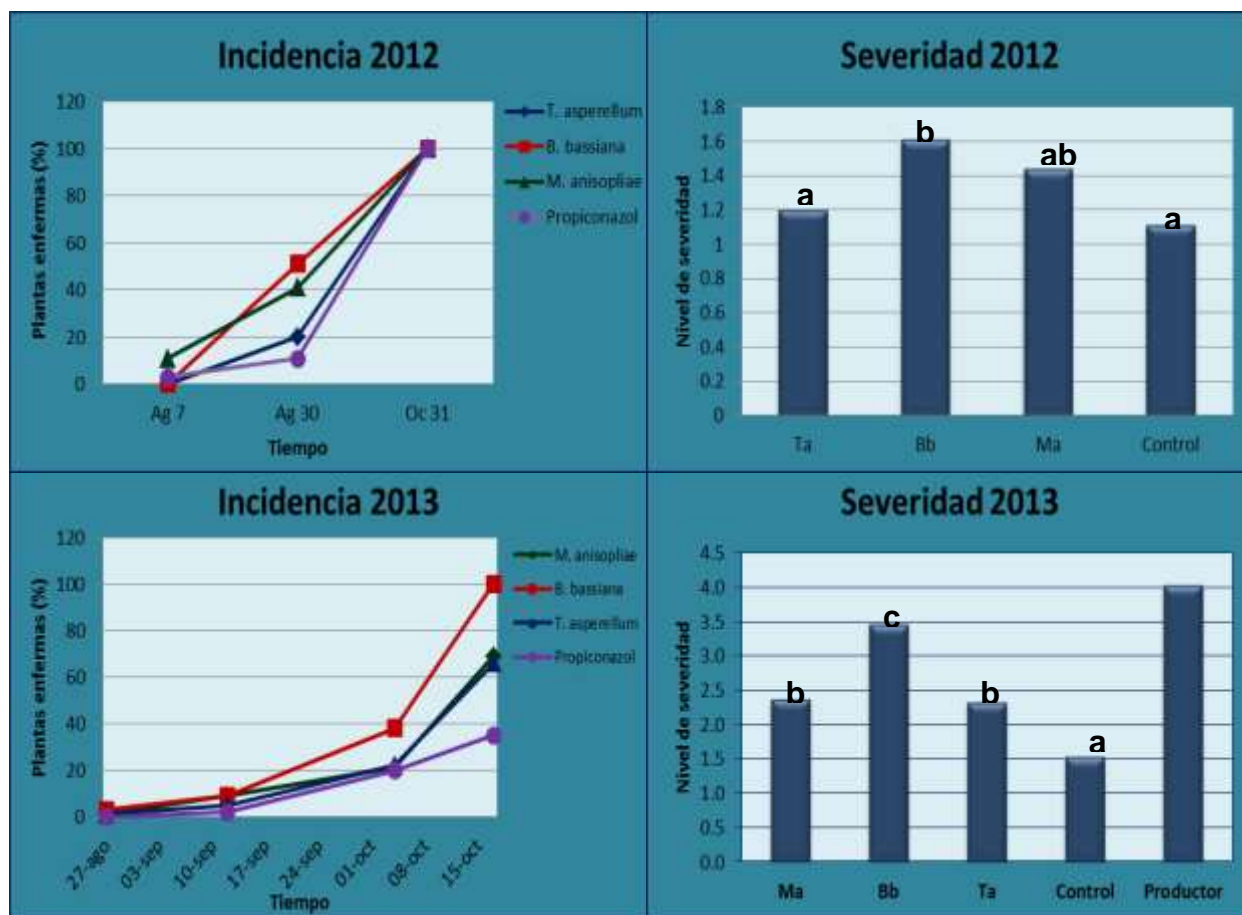
Chile tipo árbol

El comportamiento de la cenicilla es menos severo en chile árbol que en jalapeño, lo que confirma lo observado en estudios de invernadero, donde chile árbol fue menos afectado que chilaca y jalapeño. La enfermedad inicia en el mes de agosto y al paso del tiempo se incrementa hasta alcanzar su mayor presencia (incidencia) en el mes de octubre (momento de la cosecha).

En dos años de observación se observó que el empleo de hongos antagonistas reduce la velocidad de crecimiento de la enfermedad.

La reducción de la incidencia es más acentuada cuando se aplica *T. asperellum* o *M. anisopliae*, aunque aparentemente los resultados son más consistentes al emplear *Trichoderma* y cuando la enfermedad no es muy fuerte sus beneficios son similares a los obtenidos con fungicida químico sintético.

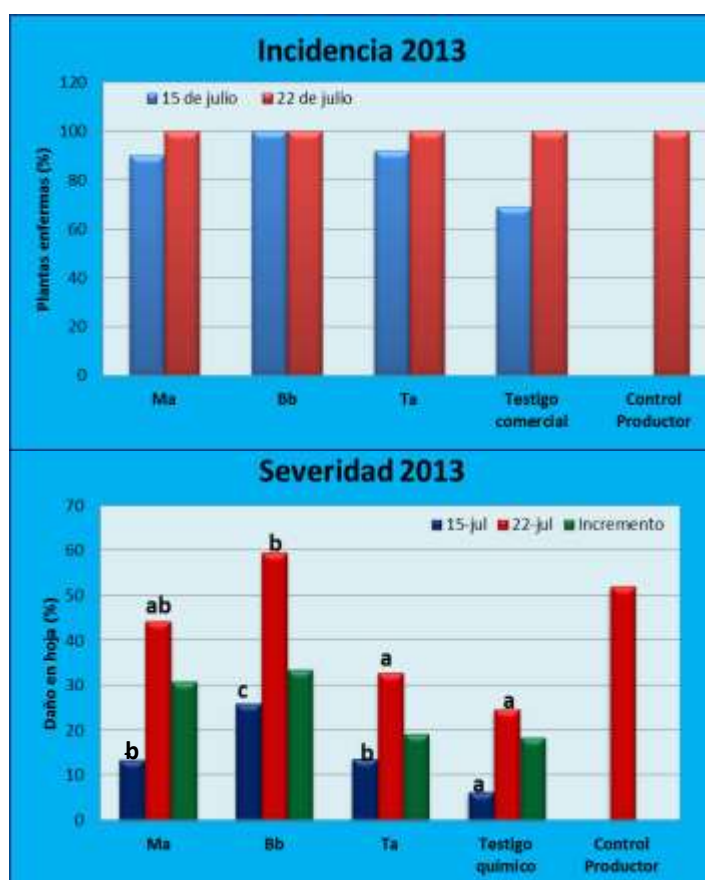
La severidad de los daños también se reduce con los agentes de control biológico. En el 2012, cuando la enfermedad fue más ligera, el control de *Trichoderma* es igual al alcanzado con fungicida convencional. Cuando la enfermedad es más severa, como en el 2013, el fungicida convencional da los mejores resultados, aunque el control alcanzado por *T. asperellum* y *M. anisopliae* le siguen muy de cerca. Los resultados demuestran que el empleo de estos dos antagonistas reduce de manera importante los daños por cenicilla y representan una buena alternativa al uso de fungicida químico.



Biocontrol de la cenicilla en campo

Chile tipo Jalapeño

En chile tipo jalapeño la enfermedad es más agresiva y se adelanta significativamente en el ciclo del cultivo. En Aldama, Chih. los primeros síntomas en la parcela experimental se observan en el mes de junio, aunque en otras parcelas se observaron desde el mes de mayo. Veinte días fueron suficientes para que la enfermedad afectara la totalidad de las plantas de la parcela, alcanzando una incidencia del 100% en el mes de julio. También durante el mes de julio la severidad de los daños se acentuó, aunque de forma variable entre tratamientos. En un primer muestreo, el uso del fungicida convencional mostró mejores resultados, seguido de cerca por el empleo de *Trichoderma* y *Metarhizium*. Un segundo muestreo mostró resultados similares al usar fungicida convencional y *Trichoderma*. El empleo de *Metarhizium* también mostró buenos resultados.



De los avances actuales puede concluirse que *T. asperellum* y *M. anisopliae* representan una buena alternativa para el control biológico de la cenicilla, en tanto que los resultados al utilizar *B. bassiana* no fueron satisfactorios.

Durante el 2013, las condiciones ambientales dificultaron el desarrollo de los estudios. Los excesos de lluvia impidieron que se siguiera el calendario de aplicaciones programadas por lo que la información que se presenta es parcial. Durante el 2014 se pretende continuar con las evaluaciones de campo en chile jalapeño, de tal forma que se tenga un panorama completo del comportamiento del control biológico a lo largo del ciclo de cultivo.

Aplicación de los hongos antagonistas

Para la protección del cultivo, los hongos antagonistas deben ubicarse en los sitios en donde habrán de encontrarse con los fitopatógenos. En el caso de la cenicilla, los primeros síntomas se observan en las hojas de la parte inferior de las plantas, por lo cual es importante que las aplicaciones pongan especial atención en estos puntos. Las aplicaciones deberán realizarse dirigiendo las boquillas de abajo hacia arriba.

En chiles jalapeño y chilaca las aplicaciones deben iniciarse preferentemente la tercera semana del mes de mayo a una dosis de 2 L por hectárea. A partir de los primeros síntomas se realizarán cada 15 o 20 días aplicando 3 L por hectárea. Si los niveles de cenicilla continúan bajos se podrá continuar con las aplicaciones biológicas cada 20 días. Si después de tres aplicaciones biológicas los niveles de la enfermedad siguen siendo fuertes habrá necesidad de una o dos aplicaciones de fungicida químico convencional. Nuevos brotes de la enfermedad podrá tratarse nuevamente con el uso de hongos antagonistas a dosis de 3 L por hectárea e intervalo de 20 días entre una y otra aplicación.

En chile árbol las aplicaciones se realizan a partir del mes de agosto, siguiendo un esquema similar al descrito para jalapeño y chilaca. De acuerdo con las investigaciones realizadas en chile árbol es más factible prescindir del fungicida químico ya que los hongos antagonistas controlan adecuadamente a la cenicilla, aplicados cada 20 días a una dosis de 2-3 L por hectárea.

Es recomendable que las aplicaciones se realicen por las tardes poco antes de que se meta el sol, esto permitirá mejores condiciones para el adecuado establecimiento de los hongos. Se recomienda uso de algún adherente dispersante o bien jabón líquido. Cuando la aplicación se realiza mecánicamente, es recomendable realizarla con una presión menor a 100 lbs/pulg² y cuando los vientos no excedan los 15 km/h.



Colaboradores

Investigadores

Dra. Layla Naycel Muñoz Castellanos. Facultad de Ciencias Químicas. UACH.

Estudiantes

Instituto Tecnológico de Jiménez

Enrique Moreno Sapien

Alma Guadalupe Gaytán Palacios

Instituto Tecnológico de Parral

Alaciel Guerrero Arguello Prieto

Leonel Gerardo Rojas Sáenz

Diana Elizabeth Rueda Jurado

Claudia Iveth Ayala Urquidi

Universidad Tecnológica de la Tarahumara

Víctor Hugo Palma Espino

Rafael Edén Armendáriz Ortiz

Neyra Torres Armendáriz

Nidia Mireya Rascón Chaparro

Erick Emmanuel Valenzuela Chaparro

Universidad Autónoma de Chihuahua

Nalleli Flores Ortiz

Judith Adriana González González

Adrián Rodríguez Domínguez

Agradecimientos

A la Fundación Produce Chihuahua A.C. por el financiamiento otorgado para el desarrollo de los trabajos realizados.

A la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua, por las facilidades brindadas.

Al Sr. Armando Quiroz Güereque y Sr. Rafael Ortega, las facilidades brindadas para el desarrollo del presente trabajo en sus parcelas agrícolas.

Mayores informes sobre este y otros temas



Centro de Investigación en Recursos Naturales

Antigua Escuela Normal de Saltales

Saltales, López, Chihuahua. México

Tel. (629) 534-6048

Fax (629) 534-6023