

## ESTRATEGIAS DE MANEJO INTEGRADO DE *Sclerotium cepivorum* Berk. Y LA PUDRICIÓN BLANCA DEL AJO EN CARACHE, ESTADO TRUJILLO, VENEZUELA

Dilcia Ulacio<sup>1</sup>, María Auxiliadora Jiménez<sup>1</sup> y Wilfredo Perdomo<sup>2</sup>

### RESUMEN

*Sclerotium cepivorum*, hongo que afecta exclusivamente a las especies de *Allium*, se encuentra prácticamente en todas las regiones donde se cultivan estas especies y puede causar pérdidas de hasta el 100 % de la cosecha. En este trabajo se evaluó el efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* (Tri), extractos vegetales acuosos (Ex), nitrato de calcio (Ca), solarización (Sol) y Tebuconazole (Teb) en la densidad inicial (DI) y final (DF), así como la viabilidad inicial (VI) y final (VF) de *S. cepivorum*, la incidencia de la pudrición blanca, y el rendimiento del ajo en dos ciclos de siembra, en Carache, estado Trujillo, Venezuela. Cada tratamiento (12 para cada ciclo) se repitió cinco veces en el primer ciclo y cuatro en el segundo ciclo, arreglados en bloques al azar. Se realizó un análisis de conglomerados con los tratamientos, considerando todas las variables anteriores. En el primer ciclo se detectaron dos grupos divididos entre la aplicación o no del fungicida, y los tratamientos con Teb resultaron ser más efectivos para reducir los esclerocios del hongo, con cero incidencia de enfermedad y mayor rendimiento con respecto al resto de los tratamientos, incluyendo el testigo. En el segundo ciclo también se formaron dos grupos donde se asociaron TebExSol, ExTri, Ca, TebExCa y ExTriCa con menor cantidad de esclerocios viables (<100 kg<sup>-1</sup> de suelo), menor incidencia de enfermedad (7,5 % o menos) y mayor rendimiento (hasta 18.699 kg·ha<sup>-1</sup>) con respecto al resto de los tratamientos. La producción en ExTriCa fue la mayor, y en contraste, el testigo alcanzó sólo 3926 kg·ha<sup>-1</sup>. Se concluye que el manejo de la pudrición blanca es factible, mediante el manejo integrado, pudiéndose recuperar los suelos para la siembra de ajo.

**Palabras clave adicionales:** Agricultura sustentable, *Allium sativum*, evaluación epidemiológica, hongo del suelo

### ABSTRACT

#### Integrated management of *Sclerotium cepivorum* BERK., and garlic white rot in Carache, Trujillo State, Venezuela

*Sclerotium cepivorum*, a fungus that affects only *Allium* species, is found in virtually all regions where these species are grown and can cause losses of up to 100 % of the crop. The effect of *Trichoderma harzianum* (Tri), a compound of aqueous vegetables extracts (Ex), calcium nitrate (Ca), solarization (Sol) and Tebuconazole (Teb) applied individually or combined in two periods of growth of garlic were evaluated on the behavior of *S. cepivorum* initial and final density and viability (ID, FD, IV, and FV), incidence of the white rot, and garlic yield. The assay was conducted in Carache, Trujillo State, Venezuela. Each treatment (twelve in each period) had five repetitions in the first period, and four in the second, in a randomized block design. A cluster analysis was performed considering the variables above mentioned for each treatment. In the first period, the analysis showed two contrasting groups, divided among the plots treated or not with the fungicide. The treatments with Teb were the most effective strategies to reduce the pathogen sclerotia viability with zero disease incidences, and the best yield with respect to rest of the treatments, including the control. In the second period, two groups were also formed, with the association of TebExSol, ExTri, Ca, TebExCa y ExTriCa with the least amount of viable sclerotia (<100 kg<sup>-1</sup> of soil), least disease incidence (7.5 % or less) and higher yield (up to 18,699 kg·ha<sup>-1</sup>) with respect to the rest of treatments. In this last period, the production in ExTriCa was the best; in contrast, the control reached only 3926 kg·ha<sup>-1</sup>. It is concluded that it is likely to control the white rot disease by means of integrated management, being possible to recover the soils for garlic production.

**Additional key words:** Sustainable agriculture, *Allium sativum*, soilborne fungi, Integrated management

### INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el principal problema

fitosanitario del cultivo del ajo es causado por *Sclerotium cepivorum* Berk, un hongo con origen en el suelo, que induce la enfermedad denominada

Recibido: Mayo 24, 2010

Aceptado: Marzo 7, 2011

<sup>1</sup> Posgrado de Fitopatología, Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado".  
e-mail: dilciau@ucla.edu.ve

<sup>2</sup> Dpto. Ciencias Biológicas, Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado".  
Apdo. 400. Barquisimeto. Venezuela

podrición blanca y que puede reducir el rendimiento hasta un 100 % (Schwartz y Mohan, 1995). En Venezuela, se ha observado que esta enfermedad ha traído como consecuencia el abandono de considerables áreas de siembra. A pesar de la alta especificidad de *S. cepivorum*, su control se dificulta debido a que forma esclerocios que pueden permanecer viables en el suelo hasta por 20 años o más (Coley-Smith, 1990).

Los esfuerzos para reducir la densidad de inóculo en suelos infestados por *S. cepivorum* mediante prácticas como la solarización, la rotación de cultivos e incorporación de materia orgánica (Ulacio et al., 2006); la aplicación de calcio (Rojas et al., 2009) o prácticas de tipo biológico (Ulacio et al., 2006) o químico (Delgadillo et al., 2002), han resultado en algunos casos, poco satisfactorias o con costos muy elevados; pero con gran potencial para controlar a la enfermedad y aumentar el rendimiento del cultivo.

Dada la naturaleza de *S. cepivorum* y la dificultad para controlarlo en un solo ciclo de desarrollo del cultivo, las investigaciones deben dirigirse a la integración de prácticas de manera continua, monitoreando el comportamiento tanto del patógeno como de la enfermedad. De esta forma, en el presente trabajo se evaluó el efecto de la integración secuenciada de estrategias de manejo en parámetros epidemiológicos del patosistema *S. cepivorum*-ajo durante dos ciclos de producción del cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se estableció en el sector Mesa Arriba en Carache, estado Trujillo (9°42' N; 70°05' W; 1500 msnm) con un alto grado de infestación natural con *Sclerotium cepivorum*, donde tradicionalmente se siembra ajo. Se estudiaron dos ciclos del cultivo (octubre 2005 a febrero 2006, y mayo 2006 a septiembre 2006).

En el primer ciclo, la parcela (con una densidad de inóculo inicial promedio de 80,4 esclerocios viables de *S. cepivorum* por kilogramo de suelo) se dividió en 12 sub-parcelas de 10 m x 1 m; las cuales delimitaron cinco unidades experimentales (UE) de 2 m<sup>2</sup> cada una.

Se aplicó *Trichoderma harzianum* (Tri) a partir del producto comercial SuBiol, calcio (Ca), en forma de nitrato de calcio, una mezcla de

extractos vegetales acuosos (Ex) asperjados a las hojas de las plantas, y Tebuconazole (Teb), solo o en todas las combinaciones posibles, excepto con Tri. *T. harzianum* se utilizó a razón de 15 g del producto mezclado con un surfactante (Surfactron) a 2 kg de semilla de ajo, y luego a los 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días después de la siembra (dds), utilizando en cada oportunidad 2,3 g por cada 2,5 L de agua, agregado con una asperjadora de espalda al suelo húmedo. De Tebuconazole se aplicó el equivalente a 1 L por 1000 kg de semilla, mezclado con el insecticida endosulfan (Thionil) y el surfactante en igual dosis; posteriormente se aplicó a los 30 y 60 dds, agregando 16 mL por cada 2,5 L de agua muy cercano al cuello de la planta. El nitrato de calcio se asperjó a las hojas en dosis de 1 g·L<sup>-1</sup>, desde los 15 hasta los 60 dds, cada 15 días. Para la aplicación de los extractos vegetales, se trituraron en agua aproximadamente 2 kg de hojas (8 % p/v) de cada una de las siguientes plantas: tabaco (*Nicotiana tabacum*), ortiga o pringamosa (*Urtica* sp.), basbasco (*Polygonum* sp.), zábila (*Aloe vera*) y durazno (*Prunus persica*), normalmente utilizadas por el productor para el control de insectos. Antes de su uso, la mezcla fue mantenida en un envase plástico oscuro durante 15 a 25 días, bajo sombra, agitándose con frecuencia. Se asperjaron las hojas de las plantas con dosis de 50 mL·L<sup>-1</sup> desde los 15 hasta los 90 dds, cada 15 días.

Se sembraron semillas-diente de ajo tipo morado, de apariencia sana, proporcionadas por un productor de la zona. En cada UE se sembraron cinco hileras con una separación de 0,20 m, sembradas a chorro corrido. La cosecha del ajo se realizó a los 124 días. Las plantas se llevaron al laboratorio, donde se secaron al aire, y una semana después, los bulbos fueron separados de las hojas para pesarlos. Para la estimación del rendimiento se tomaron los bulbos sanos de la segunda y tercera hilera de cada UE.

En el segundo ciclo, la selección de los tratamientos se realizó bajo dos enfoques principales: el uso de Tebuconazole y de solarización, solos o combinados con aquellos tratamientos que mostraron alta incidencia de pudrición blanca, resultante del ciclo anterior, pero manteniendo la aplicación de *T. harzianum*, nitrato de calcio y los extractos vegetales acuosos; estos últimos ahora aplicados al suelo y sin disolver nuevamente en agua, de forma que la

dosis fue de unos 310 mL del extracto por metro cuadrado de suelo. La dimensión de la sub-parcela fue de 8 m x 1 m, delimitando cuatro UE de 2 m<sup>2</sup> cada una, para cada tratamiento.

La solarización se realizó cubriendo el suelo con una lámina plástica transparente de 0,02 mm de espesor por 40 días, finalizando 51 días antes de la siembra del cultivo. La temperatura del suelo se tomó cada hora usando un registrador electrónico marca Hobo con sensores colocados a 15 cm de profundidad. Previo a la solarización, se realizó la preparación del terreno teniendo cuidado de mantener las UE con las que se inició el estudio. Cada UE consistió de cuatro hileras y la evaluación se realizó en las dos hileras centrales.

La aplicación de *T. harzianum* se realizó a la semilla y, al suelo, a los 30, 60, 75, 90 y 105 dds; se utilizó la dosis de 2,3 g·L<sup>-1</sup> a los 30 y 60 días, y ésta se duplicó durante el resto del ciclo. El nitrato de calcio fue aplicado similarmente a como se hizo en el ciclo anterior, pero aumentando la dosis a 6 g·L<sup>-1</sup> de agua para tratar de detectar algún efecto fitotóxico. El Tebuconazole y los extractos vegetales fueron aplicados en la misma concentración que en el primer ciclo.

En este segundo ciclo se sembraron semillas seleccionadas de la cosecha obtenida del ciclo anterior. El manejo hortícola dado al cultivo fue mejorado y se incorporó abono orgánico a razón de 2400 kg·ha<sup>-1</sup>, más fertilizante 12-18-18/2, a razón de 200 kg·ha<sup>-1</sup> y dos aplicaciones de urea a los 30 y 60 dds a razón de 100 kg ha<sup>-1</sup>. Asimismo, se efectuaron dos aplicaciones de un herbicida de contacto más limpiezas manuales, y riegos hasta los 95 dds. En cada UE se sembraron a chorro corrido cuatro hileras con una separación de 0,25 m. La cosecha del ajo se realizó a los 125 días después de la siembra, siguiendo el procedimiento del ciclo anterior.

A objeto de evaluar el efecto de los tratamientos en la densidad y viabilidad de los esclerocios, en los dos ciclos del ensayo se tomaron muestras de suelo antes de la siembra del ajo y al final de cada ciclo de cultivo. El muestreo se realizó en zig-zag tomando la capa de suelo de 0 a 15 cm de profundidad. En cada UE se tomaron cuatro sub-muestras de aproximadamente 70 g cada una, las cuales se mezclaron para obtener una muestra compuesta. Luego se tomaron tres alícuotas de 30 g de suelo para extraer los esclerocios mediante la técnica del tamizado

húmedo (Adams, 1979). Se cuantificó el número de esclerocios y se estimó la densidad de inóculo. Para determinar la viabilidad de los esclerocios, se utilizó la metodología empleada por Ulacio et al. (2006), la cual consistió en romper los esclerocios e incubarlos durante varios días. Se determinó la densidad inicial (DI) y final (DF) del inóculo, así como su viabilidad inicial (VI) y final (VF), el tiempo de inicio de la enfermedad (To), la incidencia de la enfermedad (IE), estimando la tasa de incremento de la enfermedad (b<sup>-1</sup>), de acuerdo al modelo de Weibull, y el rendimiento del ajo (Rend) en kg·ha<sup>-1</sup>. Para determinar la tasa de incremento de la enfermedad (b<sup>-1</sup>), se utilizó una escala cualitativa arbitraria de acuerdo a lo observado en campo y según la referencia de Ulacio et al. (2006), de la siguiente manera: <0,01=epidemia muy lenta; entre 0,01 y 0,014=lenta; entre 0,015 y 0,024=moderadamente rápida; entre 0,025 y 0,034=rápida; y >0,035=muy rápida.

Las unidades experimentales se dispusieron en un diseño en bloques al azar; no obstante, a partir del segundo ciclo los tratamientos fueron establecidos de manera sistemática, obviando la aleatorización. De esta forma, para la interpretación de los resultados se realizó una prueba estadística multivariada, utilizando un análisis de conglomerados mediante el Programa NTSYS-pc versión 1.7. Este análisis permitió investigar la asociación entre los tratamientos, involucrando las variables DI, VI, DF, VF, To, IE y Rend.

## RESULTADOS

**Densidad y viabilidad de esclerocios de *Sclerotium cepivorum*.** La densidad inicial de inóculo (DI) muestreada en el área de estudio antes de la siembra del cultivo en el primer ciclo, osciló entre 30 y 270 esclerocios·kg<sup>-1</sup> de suelo, mientras que la viabilidad se ubicó entre 20 a 235 esclerocios viables·kg<sup>-1</sup> de suelo (Cuadro 1). Al final del primer ciclo, todos los tratamientos presentaron un notable aumento en la densidad final de esclerocios (DF), con respecto a la DI, excepto aquellos donde se aplicó el fungicida Tebuconazole de manera individual o combinado con los extractos vegetales aplicados a las hojas (TebEx) y calcio (TebCa); este efecto fue más evidente cuando se evaluó la viabilidad, resultando en un descenso de los esclerocios

viables (Cuadro 1). Además de los anteriores, los tratamientos TebExCa y ExTriCa culminaron el ciclo con menos de 100 esclerocios viables·kg<sup>-1</sup>. El resto de los tratamientos (Test, Tri, Ca, Ex, TriCa, ExCa y ExTri) superaron esta cifra de esclerocios viables.

Entre el inicio y el final del segundo ciclo, hubo una disminución importante de la cantidad de esclerocios totales en los tratamientos donde se combinaron los extractos vegetales incorporados al suelo con Tebuconazole+nitrato de calcio (TebExCa), con Tebuconazole+solarización (TebExSol) y con *T. harzianum* (ExTri), en cuyas

parcelas inicialmente se aplicó Ex, TebCa y TebEx, respectivamente, al compararlo con el inóculo total inicial en el testigo, que mostró un incremento, pasando de 360 a 420 esclerocios·kg<sup>-1</sup> de suelo (Cuadro 1).

Los tratamientos cuya densidad total de esclerocios superaron a los encontrados en el primer ciclo y al testigo fueron Teb, SolTri y SolCa, en cuyas parcelas se aplicó inicialmente ExCa, ExTri y ExTriCa, respectivamente. En cuanto a la viabilidad de los esclerocios, hubo una disminución drástica sólo en TebExCa y TebExSol (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Densidad inicial (DI) y final (DF), y viabilidad inicial (VI) y final (VF) de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en dos ciclos de cultivo de ajo en función de tratamientos aplicados secuencialmente en Carache, estado Trujillo

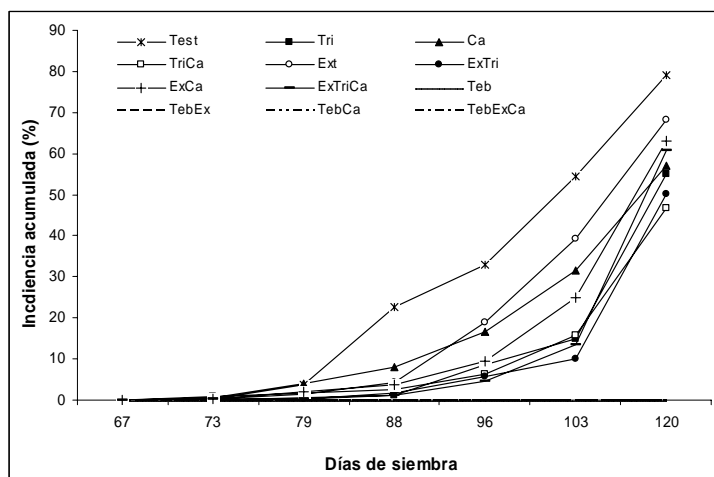
Tratamientos Ciclo 1 / Ciclo 2	DI Ciclo 1	DF Ciclo 1	DF Ciclo 2	VI Ciclo 1	VF Ciclo 1	VF Ciclo 2
Test / Test	60	360	420	43	234	252
Tri / Tri	120	610	410	56	397	230
Ca / Sol	270	570	240	235	342	192
Ex / TebExCa	80	300	160	60	183	35
Teb / ExTriCa	50	40	150	30	16	104
TriCa / SolTriCa	130	340	390	112	211	265
ExCa / Teb	80	480	640	73	240	390
ExTri / SolTri	70	180	600	48	101	348
ExTriCa / SolCa	70	180	940	48	79	677
TebEx / ExTri	180	130	40	149	40	33
TebCa / TebExSol	100	210	150	91	76	23
TebExCa / Ca	30	120	120	20	56	107

Test: Testigo; Tri: aplicación de Trichoderma; Ca: nitrato de calcio; Sol: solarización; Ex: mezcla de los extractos vegetales; Teb: Tebuconazole. La cantidad de esclerocios es por kilogramo de suelo. La viabilidad está expresada en la cantidad de esclerocios que produjeron micelio en agar-agua

Durante la etapa de solarización, el promedio de horas diarias continuas entre 30,3 y 34,5 °C en suelo no solarizado (SNS) se mantuvo por 1,87 horas, mientras que en suelo solarizado (SS) la duración continua fue de 2,33 horas. En cuanto a temperaturas mayores a 35°C, la duración continua promedio fue de 2,80 horas en SNS y de 3,18 horas en SS. Cabe resaltar que la solarización inhibió a las malezas de hoja ancha, pero estimuló la germinación de las de hojas angostas, las cuales, en condiciones normales, no crecen en la parcela objeto de estudio.

**Incidenia de la pudrición blanca.** En el primer ciclo, las plantas que recibieron tratamientos con Tebuconazole solo o combinado

con nitrato de calcio o con los extractos vegetales asperjados a las hojas, no manifestaron síntomas. El testigo presentó la mayor incidencia final de la enfermedad (79 % de plantas enfermas); el resto de los tratamientos presentó entre 50,1 y 68,3 % de incidencia (Figura 1). En el testigo, la enfermedad se incrementó agresivamente a partir de los 79 días y se comportó de manera policíclica hasta la cosecha, mientras que en TriCa, ExTri, Tri y ExTriCa, la forma de las curvas aunque sufrieron modificaciones, mostraron varios ciclos de infección. En Ex, Ca y ExCa, la enfermedad inició su ascenso a los 88 y 96 días, respectivamente, retrasándose entre 9 y 18 días, con respecto al testigo (Figura 1).

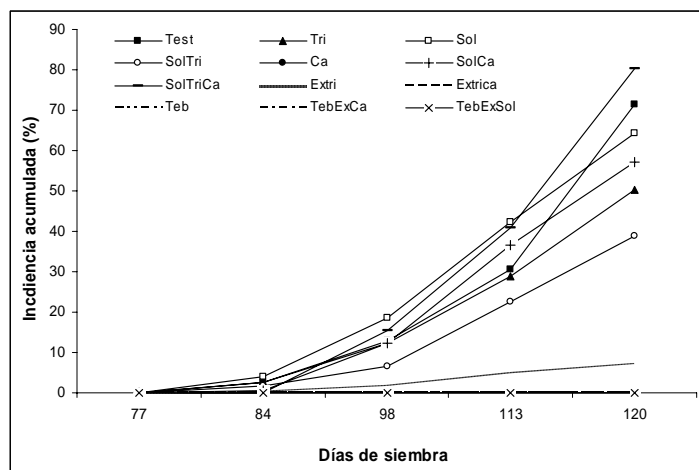


**Figura 1.** Incidencia acumulada de la pudrición blanca del ajo en los diferentes tratamientos aplicados en el primer ciclo del ensayo (octubre 2005-febrero 2006) en Carache, estado Trujillo

Con respecto a la tasa de incremento de la enfermedad ( $b^{-1}$ ), todos los tratamientos donde se presentaron los síntomas, mostraron una velocidad moderadamente rápida (entre 0,022 a 0,024), a excepción del tratamiento con extractos vegetales y el testigo, cuya velocidad se consideró rápida (0,025 y 0,027, respectivamente) de acuerdo a la escala establecida.

En el segundo ciclo, los tratamientos Ca, ExTriCa, TebExCa y TebExSol no presentaron la

enfermedad. A partir de los 84 días, aquellos tratamientos que presentaron una alta incidencia de pudrición blanca mantuvieron el mismo comportamiento progresivo, ascendente y policíclico del primer ciclo del estudio, ubicándose entre 50 y 80 % de incidencia, a excepción del tratamiento de solarización+*T. harzianum*, cuyo ascenso sostenido se retrasó hasta el día 98, y alcanzó una incidencia final de sólo 39 % (Figura 2).



**Figura 2.** Incidencia acumulada de la pudrición blanca del ajo en los diferentes tratamientos aplicados en el segundo ciclo del ensayo (mayo-septiembre 2006) en Carache, estado Trujillo

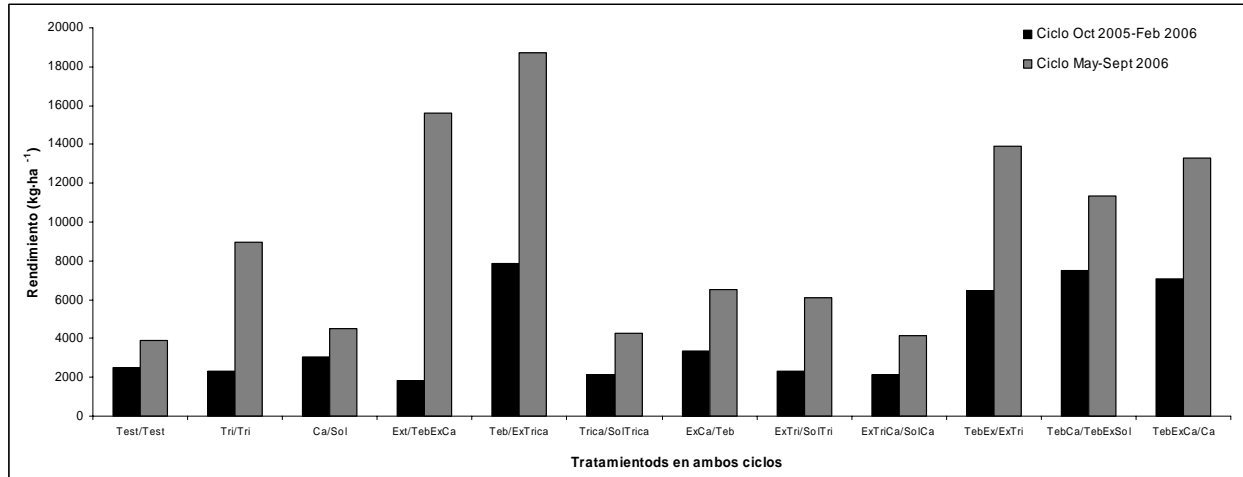
En los tratamientos ExTri y Teb, se evidenció un cambio drástico en el comportamiento de la curva, indicando una disminución de la infección por parte del patógeno a través de las raíces del

ajo, detectándose sólo 7,5 y 0,75 % de incidencia de pudrición blanca, respectivamente (Figura 2). Con respecto a la tasa de incremento de la enfermedad ( $b^{-1}$ ), los tratamientos ExTri y Teb

presentaron epidemias muy lentas (0,0049 y 0,0013), SolTri y Tri, moderadamente rápidas (0,019 y 0,022) y el resto de los tratamientos (Test, Sol, SolCa, y SolTriCa), presentaron epidemias consideradas rápidas (de 0,025 a 0,034), de acuerdo a la escala señalada.

**Rendimiento del ajo.** En el primer ciclo, los tratamientos con Tebuconazole (Teb), llegaron a triplicar el rendimiento de 2529 kg·ha<sup>-1</sup> alcanzado

en el testigo (Figura 3); mientras que otros, como nitrato de calcio y extractos vegetales+nitrato de calcio, sólo mostraron incrementos promedio entre 20 y 32 %. En el segundo ciclo, hubo un claro aumento del rendimiento en todos los tratamientos; los mayores valores correspondieron a los tratamientos ExTriCa y TebExCa, los cuales llegaron a cuadruplicar el rendimiento del testigo (3926 kg·ha<sup>-1</sup>).



**Figura 3.** Rendimiento de los bulbos de ajo en los dos ciclos evaluados, en función de la aplicación secuenciada de los tratamientos Test: Testigo; Tri: aplicación de Trichoderma; Ca: nitrato de calcio; Sol: solarización; Ex: mezcla de los extractos vegetales; y Teb: Tebuconazole, en Carache, estado Trujillo

De acuerdo al análisis de conglomerados, las variables de mayor influencia en el estudio fueron las relacionadas con el patógeno (densidad y viabilidad inicial y final), las cuales explicaron más del 80 % de la variabilidad total en los dos ciclos evaluados (datos no mostrados). Al correlacionar las variables densidad y porcentaje de viabilidad del inóculo inicial y final, tiempo de inicio de la enfermedad, incidencia final de la enfermedad y el rendimiento del ajo en cada ciclo, los tratamientos quedaron agrupados, tal como se muestra en los dendogramas de las Figuras 4 y 5.

En el primer ciclo, resultaron dos grandes grupos contrastantes, divididos entre aquellos tratamientos donde se aplicó o no el fungicida (Figura 4). La asociación entre los tratamientos con Tebuconazole (Teb, TebCa, TebEx y TebExCa) osciló entre 65 y 90%, siendo los de mayor similitud Teb y TebExCa con las menores densidades de inóculo viable inicial y final (alrededor de los 100 esclerocios·kg<sup>-1</sup> de suelo),

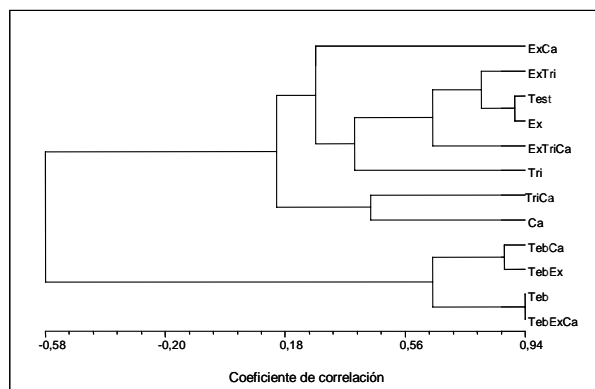
sin incidencia de la enfermedad y los mayores rendimientos del cultivo, mientras que la asociación en el grupo donde no se aplicó el agroquímico, osciló entre 10 y aproximadamente 88 %, siendo los más correlacionados Test y Ex (Figura 4) resultando con una carga de inóculo superior a los 300 esclerocios·kg<sup>-1</sup> de suelo, mayor incidencia de la enfermedad y menores rendimientos de ajo.

En el segundo ciclo también se observaron dos grandes grupos (Figura 5), en los cuales se mantuvieron asociados aquellos tratamientos que mostraron la menor cantidad de esclerocios viables (menor o cercanos a 100 esclerocios·kg<sup>-1</sup> de suelo) tanto al inicio como al final del ciclo, la menor incidencia de la enfermedad y los mayores rendimientos del cultivo (ExTriCa, TebExCa, ExTri, TebExSol y Ca), contra aquellos que resultaron con la mayor cantidad de esclerocios viables al final del ciclo (superior a los 192 esclerocios·kg<sup>-1</sup> de suelo), incidencia de la

enfermedad superior a 38 % y rendimientos menores a 8496 kg·ha<sup>-1</sup>.

### DISCUSIÓN

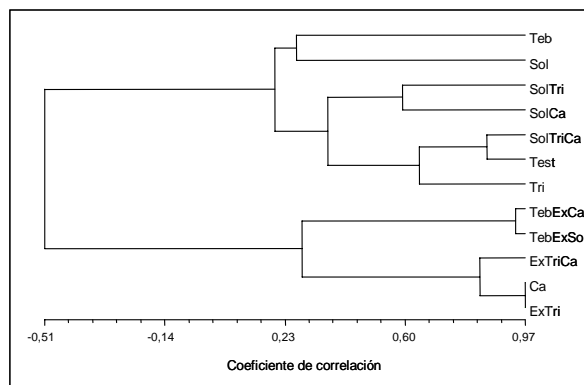
El tamaño de la población de esclerocios fue un factor primordial, que no sólo determinó la incidencia de la pudrición blanca (Crowe et al. 1980; Entwistle, 1990; Ulacio et al. 2006), si no también cuales y cuantas estrategias de manejo se podrían utilizar para la obtención de los mejores resultados. Esto se vio reflejado en el análisis de conglomerados, tomando en cuenta que las variables de mayor influencia para la asociación de los tratamientos fueron aquellas relacionadas con el patógeno, cuya densidad y porcentaje de viabilidad inicial explicaron la mayor variabilidad del total de los parámetros evaluados.



**Figura 4.** Dendrograma que muestra la asociación de los tratamientos aplicados en el Ciclo 1 en ajo, de acuerdo a las variables densidad y viabilidad de inóculo inicial y final, tiempo de inicio de la enfermedad, incidencia final de la enfermedad y rendimiento, utilizando el coeficiente de correlación para mostrar la similitud entre ellos

La aplicación de Tebuconazole de manera individual en el primer ciclo, fue suficiente para disminuir el inóculo en más de un 50% e inhibir completamente la enfermedad. Experiencias previas señalan que el uso de este agroquímico ha reducido la cantidad de esclerocios y la incidencia de la enfermedad (Delgadillo et al. 2002). No obstante, si se quiere lograr un manejo sostenido de la enfermedad, y por ende, un rendimiento sustentable a largo plazo, no se debería contemplar la utilización continua del producto como única estrategia de manejo, no sólo por los

problemas de contaminación ambiental y humana, sino también por el riesgo potencial de inducir resistencia en el patógeno o seleccionar microorganismos con capacidad de metabolizar al fungicida, lo que lo haría ineficiente.



**Figura 5.** Dendrograma que muestra la asociación de los tratamientos aplicados en el ciclo 2 en ajo, de acuerdo a las variables densidad y viabilidad de inóculo inicial y final, tiempo de inicio de la enfermedad, incidencia final de la enfermedad y rendimiento, utilizando el coeficiente de correlación para mostrar la similitud entre ellos

Las estrategias de tipo cultural y biológicas aplicadas solas o combinadas en el primer ciclo del cultivo no lograron mantener las densidades del inóculo viable por debajo de los 100 esclerocios·kg<sup>-1</sup> de suelo, a excepción de la triple combinación de estrategias: extractos vegetales+ *T. harzianum*+nitrato de calcio (ExTriCa); por el contrario, en la mayoría de los tratamientos hubo un aumento de la densidad inicial en más del 300 %. Estos resultados contrastan con los de Ulacio et al. (2006), quienes obtuvieron en ensayos con ajo, reducciones de hasta un 70 % en la densidad del inóculo (con más de 400 esclerocios·kg<sup>-1</sup>), cuando aplicaron prácticas biológicas (*T. harzianum*) o culturales (rotación e incorporación de cultivos) aplicados solos o combinados en ensayos de campo.

Las bondades de *T. harzianum* han sido suficientemente difundidas y comprobadas, no sólo como antagonista (Ezziyani et al., 2004), sino también como promotor del crecimiento y de los mecanismos de defensa de las plantas (Yedidia et al., 1999; Benítez et al., 2004). No obstante, es evidente, que todo este potencial se vio limitado

con las altas poblaciones de esclerocios de *S. cepivorum*, sumado al hecho que al ser introducido, debía primeramente adaptarse a las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo (Fravel y Engelkes, 1994).

La curva del progreso de la enfermedad en el tratamiento con el antagonista (Figura 1), demostró que la aplicación de *T. harzianum* debía planificarse hasta el final del desarrollo del cultivo, tomando en cuenta que en este primer período se agregó al suelo, cada 15 días, hasta los 90 días después de la siembra del ajo. Sin embargo, esta decisión involucra el aspecto económico del productor y un adecuado muestreo de los esclerocios del hongo, debido a que con altas poblaciones debe combinarse con otras estrategias de manejo, tal como se evidenció.

Con la aplicación de nitrato de calcio de forma individual se esperaba que muchos esclerocios presentes en el suelo al momento de la siembra del ajo hubiesen muerto por inanición, por un efecto indirecto, dada su función en el engrosamiento de la pared celular del bulbo o la raíz (Rojas et al., 2009) que dificultaría la penetración de las hifas del hongo; pero, por el contrario, la densidad del inóculo aumentó. Estos resultados contrastan con una investigación en ajo realizada por Rojas et al. (2009) en cuanto a que el nitrato de calcio (en dosis equivalente a 2 g·L<sup>-1</sup>) logró reducir en un 49 %, los esclerocios viables, con respecto a los encontrados al momento de la siembra del ajo.

La aplicación individual de los extractos vegetales mostró potencial al detectarse menor cantidad de esclerocios e incidencia de pudrición blanca al final del ciclo, en comparación con el testigo. Este efecto promisorio se vio reflejado en diferentes concentraciones de la mezcla de extractos vegetales fermentados sobre *S. cepivorum* y *T. harzianum* en condiciones *in vitro*, al inhibir su crecimiento a concentraciones mayores a 7,5 % (datos no mostrados).

En general, en el primer ciclo, el rendimiento fue muy bajo, independientemente de las diferencias en la densidad de población entre los tratamientos (que osciló en promedio entre 19 a 26 plantas·m<sup>-1</sup>), excepto en aquellos con Tebuconazole que superaron en más de 157 % el rendimiento del testigo.

En el segundo ciclo se obtuvo el máximo aprovechamiento de los beneficios de las estrategias de manejo, principalmente las de tipo

biológico. También se pudo corroborar que el Tebuconazole, aunque proporcionó protección a las plantas con una incidencia de pudrición blanca nula o muy baja, no fue capaz de mantener o reducir densidades de inóculo mayores a 240 esclerocios vivos·kg<sup>-1</sup> de suelo, observándose que estrategias como la solarización o uso de *T. harzianum* sí lo hicieron. Esto hace suponer que la efectividad del fungicida para manejar al patógeno estuvo determinada por la densidad de esclerocios que se encontraban en el suelo. Delgadillo et al. (2002), aunque observaron una baja incidencia de pudrición blanca (<5 %) al aplicar Tebuconazole en ensayos con 0, 25 y 50 esclerocios de *S. cepivorum* por kilogramo de suelo en ajo, detectaron que la eficacia de este fungicida en el control de la enfermedad estuvo en función de la cantidad de esclerocios y del número de aplicaciones.

No obstante, en el segundo ciclo, el Tebuconazole combinado con el resto de los tratamientos logró culminar el periodo del cultivo con una densidad de esclerocios viables, inclusive menor a la encontrada antes de la siembra inicial en el primer ciclo, tal como sucedió con TebExCa. Estas combinaciones marcaron una gran diferencia en el rendimiento del ajo, al compararlo con la aplicación individual del fungicida (Figura 3).

La solarización, incorporada como estrategia en esta parte de la investigación, salvo cuando fue combinada con los extractos vegetales y Tebuconazole, no proporcionó resultados consistentes como los encontrados por Ulacio et al. (2006), quienes al utilizar esta técnica observaron reducciones considerables del inóculo del patógeno y la incidencia de la enfermedad, así como aumentos en el rendimiento del cultivo, al compararlo con el testigo. En el presente estudio, esto probablemente se debió a las características climáticas de la zona, donde se observó que la nubosidad estuvo presente en la mayor parte del período de solarización, lo que no permitió que se alcanzaran por suficiente tiempo las temperaturas consideradas por Tjamos y Fravel (1995) como sub-letales (entre 30 y 35° C) y letales (>35 °C), y sólo se mantuvieron de manera continua por 2,33 y 3,18 h, tiempos considerados muy cortos para incidir drásticamente en el inóculo del patógeno, a diferencia de lo detectado por Ulacio et al. (2006) donde las temperaturas sub-letales y letales en suelo solarizado, se mantuvieron durante 13,2 y 4,1 h, respectivamente.



Los resultados logrados por *T. harzianum* en el segundo ciclo demostraron que, efectivamente, requiere ser agregado en altas dosis por más de un período y durante todo el desarrollo del cultivo, pero debe precisarse adecuadamente la dosis y el momento y frecuencia de aplicación ya que es necesario combinarlo con otras alternativas que maximicen su potencial, tanto para limitar al patógeno y la enfermedad, como para contribuir a mejorar el rendimiento del cultivo, tal como se observó al aplicarlo con los extractos vegetales y/o el nitrato de calcio.

El aumento de la dosis de nitrato de calcio proporcionó un alto beneficio a las plantas cuando se aplicó individualmente, logrando la protección de las mismas, y aunque la densidad de inóculo incrementó entre el inicio y el final del segundo ciclo, no indujo la enfermedad, permitiendo un rendimiento 240 % más que el testigo y 166,6 % más que lo obtenido con Tebuconazole, cuya incidencia de pudrición blanca al final del desarrollo del cultivo fue de sólo 0,75 %. Esto sugiere que el fertilizante con dosis adecuadas, pudiera utilizarse individualmente, para controlar densidades iniciales de inóculo viable por debajo de 56 esclerocios·kg<sup>-1</sup>, logrando minimizar la incidencia de la enfermedad e incrementar los rendimientos. Esta situación refleja lo señalado por Zavaleta-Mejía (2003), en cuanto a que el foco de atención no debería ser el patógeno, sino el hospedante, siendo de interés la obtención de rendimientos sustentables, a pesar de la presencia del parásito.

Los resultados obtenidos en los diferentes tratamientos donde se combinó la mezcla de extractos vegetales al suelo en el segundo ciclo, indicaron lo acertado de modificar la dosis, la concentración y la forma de aplicación debido a que contribuyó a controlar o disminuir la densidad del inóculo, mantener de 0 a 7,5 % la incidencia de la enfermedad y aumentar considerablemente el rendimiento en tratamientos con Tebuconazole o con el antagonista, al compararlo con aquellos tratamientos sin los extractos. No se encontraron referencias con relación al uso de esta mezcla de extractos vegetales para el control de este u otros patógenos.

Es posible que los extractos vegetales hayan contribuido a aumentar el efecto del resto de las alternativas de manejo, produciendo aditividad para el mejor crecimiento de las plantas, ya que

existen evidencias de que el uso de algunos extractos de plantas pueden inducir el crecimiento de las mismas (Gómez, 2009).

## CONCLUSIONES

La secuencia de estrategias que mostró mayor reducción de esclerocios viables de *Sclerotium cepivorum* entre el inicio del primer período y el segundo, mayor rendimiento del ajo, así como ausencia de la pudrición blanca, fue la de Teb-ExTriCa. Sin embargo, secuencias como TebExCa-Ca y TebEx-ExTri, también mostraron potencial para manejar al patógeno y a la pudrición blanca (con densidades de inóculo menores a 100 esclerocios·kg<sup>-1</sup> de suelo).

El fungicida Tebuconazole aplicado individualmente no fue capaz de manejar una densidad de inóculo superior a 240 esclerocios·kg<sup>-1</sup> de suelo y aunque protegió a las plantas de la pudrición blanca, se hace necesario reducir la población del patógeno para futuras siembras, por lo que debe combinarse con otras estrategias de manejo tales como los extractos vegetales y el nitrato de calcio.

La utilización de *T. harzianum* indicó que medianas a altas densidades de inóculo de *S. cepivorum* (>50 esclerocios·kg<sup>-1</sup> de suelo), necesariamente requieren de dosis altas del antagonista combinadas con otras estrategias de manejo.

La solarización combinada con *T. harzianum* o con Tebuconazole y los extractos vegetales, evidenció un efecto aditivo al reducir la incidencia de la enfermedad y el número de esclerocios viables, respectivamente.

## AGRADECIMIENTO

Al Sr. Manuel Velásquez, su Familia y vecinos de Mesa Arriba en Carache, estado Trujillo, por la hospitalidad, así como a la Sra. Ana Gómez por su asistencia en el laboratorio. La investigación fue financiada por el CDCHT de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado bajo el código 010-AG-2005

## LITERATURA CITADA

1. Adams, P. 1979. A rapid method for quantitative isolation of sclerotia of *Sclerotinia*

- minor* and *Sclerotium cepivorum* from soil. Plant Disease Reporter 63: 349-351.
2. Benítez, T., A. Rincón, M. Limón y A. Codón. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology 7: 249-260.
  3. Coley-Smith, J. 1990. Control of *Allium* white rot with diallyl disulphide. In: A. Entwistle y P. Mattusch (eds.). 4º International Workshop on *Allium* White Rot. Institute for Plant Protection in Horticulture. Braunschweig, Germany. pp. 133-139.
  4. Crowe, F., D. Hall, A. Greathead y K. Baghott. 1980. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and incidence of white rot of onion and garlic. Phytopathology 70: 64-69.
  5. Delgadillo, F., E. Zavaleta, S. Osada, A. Arévalo, V. González, D. Nieto e I. Torres. 2002. Densidad de inóculo de *Sclerotium cepivorum* y su control mediante Tebuconazole en ajo (*Allium sativum* L.). Revista Fitotecnia Mexicana 25: 349-354.
  6. Entwistle, A.R. 1990. *Allium* white rot and its control. Soil Use and Management 6: 201-209.
  7. Ezziyyani, M., C. Pérez, A. Sid, M. Requena y M. Candela. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el control de *Phytophthora capsici* en plantas de pimentón (*Capsicum annuum* L.). Annales de Biología 26: 35-45.
  8. Fravel, D. y C. Engelkes. 1994. Biological management. In: C. Campbell y D. Benson (eds.). Epidemiology and Management of Root Diseases. Springer-Verlag. Berlin. pp. 293-308.
  9. Gómez, M. 2009. Estrategias de manejo del complejo *Fusarium oxysporum*+*Meloidogyne incognita* y su efecto en el progreso temporal, la incidencia de la enfermedad y variables de producción en Pimentón (*Capsicum annuum* L.). Tesis. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Barquisimeto. 140 p.
  10. Rojas, V., D. Ulacio, M.E. Sanabria y M.A. Jiménez. 2009. Efecto del calcio, *Trichoderma* y brócoli en la pared y área celular del ajo para el control de la pudrición blanca. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas 43: 183-196.
  11. Schwartz, H. y S. Mohan. 1995. Compendium of onion and garlic disease. American Phytopathological Society (APS). St Paul-Minnesota. 54 p.
  12. Tjamos, E. y D. Fravel. 1995. Detrimental effects of sublethal heating and *Talaromyces flavus* on microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 85: 388-392.
  13. Ulacio-Osorio, D., E. Zavaleta-Mejía, A. Pedroza-Sandoval y A. Martínez-Garza. 2006. Strategies for management of *Sclerotium cepivorum* Berk. in garlic. Journal of Plant Pathology 88: 253-261.
  14. Yedidia, I., N. Benhamou y I. Chet. 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology 64: 1061 – 1070.
  15. Zavaleta-Mejía, E. 2003. Agricultura sustentable y manejo de enfermedades. In: E. Zavaleta, R. Rojas y D. Ortega (eds.). Manejo Ecológico de Enfermedades. Colegio de Postgraduados. Montecillos. México. pp. 2-7.