

CONTROL DE LA PODREDUMBRE DE LA ENDIVIA (*Cichorium intybus L var. foliosum*) PRODUCIDA POR *Sclerotinia sclerotiorum* MEDIANTE LA APLICACIÓN DE *Trichoderma harzianum*

R. ZAPATA¹; SUSANA SPIVAK¹; OLGA S. FILIPPINI² y MARIA DEL CARMEN FABRIZIO²

Recibido: 30/09/96

Aceptado: 13/12/96

RESUMEN

La podredumbre de raíz y cuello, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, es una de las enfermedades de mayor importancia del cultivo de la endivia al que ocasiona grandes estragos. El objetivo del presente trabajo fue probar la eficiencia de una cepa de *Trichoderma harzianum* como agente biocontrolador de *S. sclerotiorum* como patógeno de la endivia. Se sembró en un suelo hortícola naturalmente infestado con *S. sclerotiorum* un cultivo de endivia del híbrido Bea, siguiendo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y realizándose dos tratamientos: Testigo sin tratar y tratamiento con *Trichoderma harzianum*. Paralelamente se llevó a cabo un ensayo exploratorio con un tratamiento químico con iprodione. El porcentaje de raíces sanas correspondientes al tratamiento con *T. harzianum* fue significativamente superior al porcentaje correspondiente al testigo, tanto en la etapa realizada a campo como en la hidropónica. La misma tendencia se presentó cuando se analizaron los chicones sanos provenientes de las raíces sanas forzadas. Descriptivamente pudo observarse que no existirían diferencias entre los porcentajes de chicones sanos obtenidos a partir de un tratamiento químico y el que se obtuvo de parcelas tratadas a campo con *T. harzianum*, difiriendo ambos porcentajes del obtenido en el grupo testigo.

Palabras clave: Endivia - *Sclerotinia sclerotiorum* - Control Biológico - *Trichoderma harzianum*

CONTROL OF WATERY SOFT ROT OF WITLOOF CHICHORY (*Sclerotinia sclerotiorum*) by *Trichoderma harzianum*

SUMMARY

Watery soft rot, caused by *Sclerotinia sclerotiorum* is one of the most important diseases and the cause of great losses in the witloof chichory crop.

The objective of the present investigation was to prove the efficacy of an isolate of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent of *Sclerotinia sclerotiorum* as a pathogen of witloof.

A natural infested soil with *S. sclerotiorum* was sown with the witloof hybrid Bea following a completely randomized block design with four replications and two different treatments:

A treatment with *Trichoderma harzianum* and a control without any treatment. At the same time an exploratory assay with chemical treatment with iprodione was implemented. The percentage of healthy roots corresponding to the treatment with *Trichoderma harzianum* was significantly higher than that obtained with the control in field stage as well as in hydroponic stage. The same results were obtained after observation of the healthy chicons provenient of the healthy roots after forcing.

It could be noted that no differences exist between the percentage of healthy chicons obtained after a chemical treatment and the percentage obtained from the field treatment with *Trichoderma harzianum*, both being superior to the percentage obtained from the control.

Key words: witloof chichory - *Sclerotinia sclerotiorum* - Biocontrol - *Trichoderma harzianum*

¹Cátedra de Fitopatología, ²Cátedra de Estadística, Fac. Agronomía UBA, Avda San Martín 4453 (1417) Bs.As., Argentina.

INTRODUCCION

La endivia (*Cichorium intybus L. var. foliosum*) es una compuesta bienal que en su primer año que tiene lugar a campo, cumple una fase vegetativa que culmina con la formación de una raíz pivotante tuberizada que es cosechada y conducida a una segunda fase de cultivo, en este caso hidropónico, al cabo del cual se obtiene un brote etiolado que constituye la endivia comercial. La podredumbre de raíz y cuello causada por *Sclerotinia sclerotiorum*, es una de las enfermedades de mayor importancia de este cultivo al que ocasiona grandes estragos y pérdidas económicas en la producción comercial.

Las condiciones que favorecen la aparición de esta enfermedad en su etapa de campo son los climas excesivamente húmedos y cálidos, el tiempo seco seguido de abundantes lluvias, suelos con deficiente estructura, suelos ricos en materia orgánica, la deficiencia de calcio, una fertilización desequilibrada y sobre todo un exceso de nitrógeno (que favorece el crecimiento exuberante del follaje) (Leteinturier *et al.*, 1991). La presencia en el suelo del patógeno proveniente de un cultivo anterior y la ausencia de sus antagonistas son también determinantes.

En el suelo el patógeno ataca las raíces y provoca una infección primaria que conduce a la aparición de manchas de color marrón claro, sobre todo en la zona del cuello, que también continúa hacia zonas inferiores de la raíz, produciendo una podredumbre húmeda. Durante el forzado tiene lugar un estado posterior de la enfermedad en el cual se forma un micelio blanco algodonoso sobre la superficie de las lesiones y aparecen esclerocios negros e irregulares con una longitud máxima de 15 mm. En ataques severos se suelen producir podredumbres a campo en las que también se presentan estas últimas etapas de la enfermedad (Van Melckebeke, 1993). Las raíces infectadas a campo son las que llevan el inóculo a las cubas de forzado. La introducción del patógeno en el sistema hidropónico puede llevar a un desarrollo explosivo de la enfermedad, sobre todo cuando la solución nutritiva es recirculada. Es deseable, por lo tanto, lograr el control del desarrollo del patógeno durante la etapa de campo para minimizar la concentración

de inóculo presente al comenzar el forzado.

En general el control de esta enfermedad se realiza exclusivamente por medio de fungicidas, sobre todo con dicarboximidas como el iprodione y el vinclozolin, además de los controles culturales que pudieran llegar a ejercerse para evitar las condiciones predisponentes al desencadenamiento de la enfermedad.

Sin embargo, en muchos casos (Kay y Stewart, 1994) se ha observado una declinación a lo largo del tiempo en el nivel de control de la enfermedad que puede lograrse por medio de dichos fungicidas. Esta declinación fue relacionada por diversos autores (Walker, 1987; Slade *et al.*, 1992) con la rápida desaparición de estos agroquímicos del suelo debido a una degradación acelerada. Además debe considerarse la aparición de resistencia por parte del patógeno, (Davet, y Martin, 1993). La disponibilidad de fungicidas de reemplazo es limitada. A esto se suman las consideraciones ecológicas, económicas y sociales, que llevan a considerar al control biológico como una relevante posibilidad.

El control biológico de esclerocios con antagonistas introducidos tiene posibilidades de ser efectivo debido a, por lo menos, tres motivos:

1) Los esclerocios representan un blanco de mayor tamaño comparado con clamidosporas u oosporas y son por lo tanto más vulnerables al ataque de hiperparásitos.

2) Es necesario que los hiperparásitos destruyan sólo los esclerocios que se encuentran presentes en los 5 cm superiores del perfil del suelo, siendo en rigor suficiente eliminar los ubicados en el surco de siembra o trasplante.

3) Los diversos hiperparásitos que se han identificado pueden ser producidos en forma masiva y almacenados sin pérdida de viabilidad durante largos períodos (Cook y Baker, 1983).

Experiencias exitosas en el control biológico de la podredumbre del cuello de la lechuga (Davet *et al.*, 1981; Adams y Ayers, 1982) y otras relacionadas con la podredumbre del cuello de la achicoria (Causin, *et al.*, 1993), patosistemas similares al que se establece en la endivia con la *Sclerotinia*, confirman los postulados anteriores.

Además de comprobarse una rápida disminución en el número de esclerocios presentes, en los suelos inoculados con *T. harzianum* se ha notado una mayor disminución en la población de esclerocios como resultado de la aplicación de imidas cíclicas. Dichos microorganismos no son muy susceptibles a los fungicidas mencionados y la utilización conjunta de los auxiliares biológicos con las imidas cíclicas podría ser un modo de evitar el desbalance biológico en el suelo debido al uso exclusivo del fungicida (Davet y Martin, 1984).

El objetivo del presente trabajo fue probar la eficiencia de una cepa de *Trichoderma harzianum* como agente biocontrolador de *Sclerotinia sclerotiorum* como patógeno de la endivia.

MATERIALES Y METODOS

La cepa de *Trichoderma harzianum* utilizada fue aislada a partir de plantas de pimiento afectadas por *Sclerotium rolfsii* y probada su eficiencia in vitro contra *Sclerotinia sclerotiorum* en laboratorio (Zapata, no publicado). Posteriormente, fue caracterizada fisiológicamente (Gasoni, 1995). La producción masiva del antagonista, (en medio líquido) se realizó en el Laboratorio de Procesos Fermentativos del IMIZA, INTA Castelar, lográndose un suspensión de 5×10^8 conidios /ml (Co-zzi, Gasoni, 1995).

Se sembró en un suelo hortícola (en el campo experimental de la Facultad de Agronomía, UBA) naturalmente infestado con *S. sclerotiorum*, un cultivo de endivia del híbrido Bea, de origen francés, el 29/11/95 siguiendo un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro repeticiones, en parcelas de 1.5 m² y realizándose dos tratamientos:

- Testigo sin tratar
- Tratamiento con *Trichoderma harzianum*

Paralelamente se llevó a cabo un ensayo exploratorio, considerando además de los dos tratamientos anteriores un tratamiento químico con iprodione.

Una vez superado el estado de plántula se realizó un raleo dejando 50 individuos por parcela para todos los casos (inclusive en el ensayo exploratorio).

El 29/12/95 y repitiéndose con una frecuencia mensual, se regaron las parcelas a tratar con *Trichoderma harzianum* con una suspensión de conidios a razón de 10^{10} conidios/m², completándose tres aplicaciones durante la etapa de campo.

En las mismas fechas las parcelas correspondientes al tratamiento con iprodione se pulverizaron con una suspensión de 5 g/l a razón de 500 l/ha.

Con posterioridad al momento de la cosecha, realizada el 20/4/96, las raíces provenientes de las parcelas tratadas con *T. harzianum* recibieron un baño de inmersión en una suspensión de 10^{10} conidios/l. Las raíces cosechadas de las parcelas tratadas con iprodione recibieron un baño de inmersión en una suspensión de 2 g/l del formulado. Luego del secado al aire se colocaron a 4 ± 2 °C hasta el momento del forzado que comenzó el 17/5 y al cual ingresaron las raíces sanas, entendiéndose como tales las raíces totalmente sanas y las que aún mostrando síntomas, éstos no comprometían su viabilidad, de modo tal que pudieran arribar a la producción de un chicón (brote etiolado) comercial.

Considerando como total la suma de raíces sanas y enfermas, y la suma de chicones sanos y enfermos, se evaluaron las siguientes variables:

Porcentaje de raíces sanas provenientes del ensayo a campo.

Porcentaje de raíces sanas provenientes del forzado.

Porcentaje de chicones sanos provenientes del forzado.

Los porcentajes de raíces sanas incluyen el total de raíces totalmente sanas y las enfermas viables.

Las variables mencionadas permitieron obtener una medida de los efectos de los tratamientos. Cada una de ellas fue evaluada (Test de Kolmogorov Smirnov, para bondad de ajuste), para determinar su ajuste a una distribución normal: dando positivo en todos los casos.

Los resultados se probaron mediante análisis de variancia (ANVA) a un nivel de significación del 0,05. Las diferencias fueron estimadas a través de intervalos de confianza.

RESULTADOS

El Cuadro N° 1 muestra los resultados del ANVA para el porcentaje de raíces sanas. El tratamiento con *T. harzianum* evidenció un porcentaje significativamente superior al testigo ($p=0,007$). Los extremos del intervalo del 95% de confianza para diferen-

Cuadro N° 1: Comparación del porcentaje de raíces sanas cosechadas de la etapa de campo según los tratamientos en estudio

Tratamientos	Porcentaje de raíces sanas*	Significancia
<i>Trichoderma harzianum</i>	59,02 (2,1)	p=0,0071
Testigo	30,40 (6,8)	

*Porcentajes promedio de raíces sanas. Desvíos estándar entre paréntesis

cia de porcentajes de ambos tratamientos fueron de 0,11 y 0,46.

La Cuadro N° 2 muestra que el tratamiento con *T. harzianum* obtuvo un porcentaje de raíces sanas proveniente del forzado significativamente superior al testigo ($p=0,0002$). El intervalo del 95% de confianza para la verdadera diferencia entre ambos porcentajes fue (0,391;0,931).

Cuadro N° 2: Comparación del porcentaje de raíces sanas provenientes del forzado según los tratamientos en estudio

Tratamientos	Porcentaje de raíces sanas*	Significancia
<i>Trichoderma harzianum</i>	75,01 (10,0)	$p=0,0002$
Testigo	8,92 (6,2)*	

*Porcentajes promedio de raíces sanas provenientes del forzado. Desvíos estándar entre paréntesis

En la Cuadro N° 3 se muestra que la misma tendencia se presentó cuando se analizaron los chicones sanos provenientes de las raíces sanas forzadas ($p=0,0008$). Siendo el intervalo correspondiente a la diferencia entre los porcentajes entre 0,196 y 0,561.

Un análisis exploratorio de la situación en la que se compara la cantidad de chicones sanos obtenidos a partir de raíces tratadas con y sin *T. harzianum* y a partir de raíces con tratamiento

Cuadro N° 3: Comparación del porcentaje de chicones sanos provenientes del forzado según los tratamientos en estudio

Tratamientos	Porcentaje de chicones sanos*	Significancia
<i>Trichoderma harzianum</i>	76,84 (5,6)	$p=0,0008$
Testigo	38,97 (6,0)*	

*Porcentajes promedio de chicones sanos provenientes del forzado. Desvíos standard entre paréntesis

químico se presenta en la Cuadro N° 4 y la Figura 1. Analizando los valores descriptivos y la Figura 1 se observa que no existen diferencias entre los porcentajes de chicones sanos cuyas raíces fueron tratadas a campo con *T. harzianum* y las tratadas con tratamiento químico, pero sí ambos porcentajes difieren significativamente del grupo testigo.

Cuadro N° 4: Comparación del porcentaje de chicones sanos obtenidos en los diferentes tratamientos

Tratamientos	Porcentaje de chicones sanos*	Valor mediano	Desviación intercuartil
<i>T. harzianum</i>	78,8 (8,3)	0,795	0,136
Frat. químico	67,4 (11,9)	0,723	0,152
Testigo	36,9 (3,8)	0,369	0,069

*Porcentaje promedio de chicones sanos obtenidos en los diferentes tratamientos

Valor mediano: valor que supera y es superado por el 50 % de los datos

Desviación intercuartil: distancia entre el tercer y primer cuartil (siendo el primer cuartil el valor que supera al 25 % de los datos y es superado por el 75 % restante)

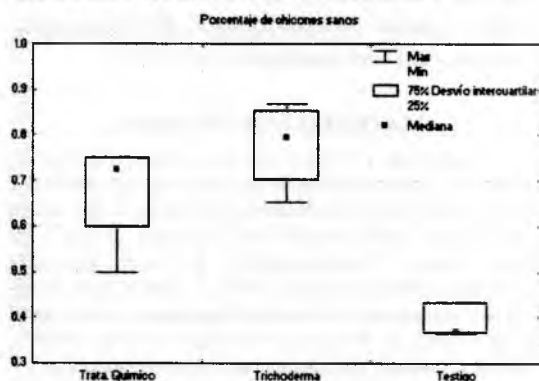


Figura 1: Porcentaje de chicones sanos obtenidos de los tratamientos con y sin *T. harzianum* y con tratamiento químico.

CONCLUSIONES

El porcentaje de raíces sanas provenientes de parcelas tratadas con *Trichoderma harzianum* resultó significativamente superior al porcentaje de raíces sanas obtenidas a partir de parcelas que no recibieron ningún tratamiento.

Asimismo las raíces provenientes del forzado que recibieron tratamiento con *Trichoderma harzianum* produjeron un porcentaje significativamente superior de chicones sanos con posibilidad de comercialización, comparado con el porcentaje de chicones sanos provenientes del grupo testigo

Por otra parte, si bien no formó parte del ensayo original, el análisis exploratorio de los datos indica que no existirían diferencias entre los porcentajes de chicones sanos obtenidos a partir de raíces sometidas a un tratamiento químico y el que se obtuvo de parcelas tratadas con *T. harzianum* difiriendo ambos porcentajes del obtenido en el grupo testigo.

BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, P. B. and W.A. AYERS 1982. Biological control of *Sclerotinia* lettuce drop in the field by *Sporidesmium sclerotiorum*. *Phytopathology* 72:485-488
- CAUSIN, R.; V. D'AMBRA and S.M. ACCORDI 1993. Effect of *T. harzianum* spp. against *Sclerotinia minor* on chicory. *Difesa delle Piante*. 1993, 16:2. 13-32, 21 ref.
- COOK, R. J.; K.F. BAKER 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogen. The American Phytopathological Society. Saint Paul. M. N 538 pp.
- COZZI, J; L. GASONI 1995. Producción de biomasa de *T. harzianum harzianum* en distintos medios y condiciones de cultivo. *Revista Forestal Venezolana*. 1 (1) : 1-27
- DAVET, P.; M. ARTIGUES and C. MARTÍN 1981 Production en conditions non aseptiques d'inoculum de *T. harzianum Rifai* pour des essais de lutte biologique. *Agronomie* 1:933-936.
- DAVET P. y C. MARTIN 1984. Effects de Traitements Fongicides aux Imides Cycliques sur les Populations de *Sclerotinia minor* dans le Sol. *Phytopath. Z.*, 112, 7-16 (1985).
- DAVET P. y C. MARTIN 1993. Resistance of *Sclerotinia minor* isolates to cyclic imides in lettuce field soils of Roussillon, France. *Journal of Phytopathology*, 138:4, 331-342.
- GASONI, L., 1995. Caracterización fisiológica de aislamientos de *T. harzianum* con aptitud biocontroladora. *Revista Forestal Venezolana*. 1(1):25.
- KAY, S.J. and A. STEWART 1994. Evaluation of fungal antagonists for control of onion rot in soil box trials. *Plant Pathology* 43 : 371-377.
- LETEINTEURIER, J., J.P. COCHET, M. MARLE y M. BENIGNI 1991. *L'Endive. Guide pratique. Cap. IV.*
- SLADE, E.A., R.A. FULLERTON, A. STEWART and H. YOUNG, 1992. Degradation of the dicarboximide fungicides iprodione, vinclozolin and procimidone in Patumahoe clay loam soil, New Zealand. *Pesticide Science* 35: 95-100.
- VAN MELCKEBEKE, J., 1993. La protection de la culture. La culture de la chicoree witloof. *Cap. IX. 3^{eme} edition. Service information. Ministre de l' Agriculture, Belgium*
- WALKER, A. 1987. Further observations on the enhanced degradation of iprodione and vinclozolin in soil. *Pesticide Science* 21: 219-231.