

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



TESIS DE GRADO

**CONTROL DE *Sclerotinia sclerotiorum* EN LECHUGA CON
Trichoderma inhamatum BAJO DISTINTAS FRECUENCIAS Y DOSIS
DE APLICACIÓN EN INVERNADERO**

PRIMITIVO EDWIN HUANCA CHOQUE

LA PAZ – BOLIVIA

2010

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



**CONTROL DE *Sclerotinia sclerotiorum* EN LECHUGA CON
Trichoderma inhamatum BAJO DISTINTAS FRECUENCIAS Y DOSIS
DE APLICACIÓN EN INVERNADERO**

**Tesis de Grado
presentada como requisito para optar
al título de Ingeniero Agrónomo**

Autor: PRIMITIVO EDWIN HUANCA CHOQUE

TUTORA:

Ing. Agr. M.Sc. Teresa Ruiz Díaz Luna Pizarro

Tribunal examinador:

Ing. Agr. M.Sc. Hugo Bosque Sánchez

Ing. Agr. Eduardo Oviedo Farfán

Ing. Agr. Victor Paye Huaranca

Aprovado

Presidente Tribunal Examinador

2010

ÍNDICE

	RESUMEN	1
I.	INTRODUCCIÓN	2
II.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
2.1.	Cultivo de la lechuga	3
2.2.	Enfermedades y plagas	6
2.3.	Moho blanco en lechuga	7
2.3.1	<i>Sclerotinia minor</i> Jagger	7
2.3.1.1.	Taxonomía de <i>Sclerotinia sp.</i>	7
2.3.1.2.	Características generales	8
2.3.1.3.	Rango de huéspedes	8
2.3.1.4.	Etiología y epidemiología	8
2.3.2.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) De Bary	8
2.3.3.	Biología del esclerocio	10
2.3.4.	Mecanismos de patogénesis de <i>Sclerotinia sp.</i>	11
2.4.	Métodos de Control	13
2.5.2.	Control Biológico de enfermedades	13
2.5.4.	Características de <i>Trichoderma sp.</i>	14
III.	METODOLOGIA	
3.1.	MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1.1.	Localización	17
3.1.2.	Materiales	18
3.3.	Determinación del agente causal de la enfermedad	20
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1.	Identificación de las especies de <i>Sclerotinia sp.</i>	24
4.2.	Prueba de patogenicidad en planta	27
4.3.	Población de esclerocios en sustrato	30
4.4.	Seguimiento de la enfermedad	31
4.7.	Variables de respuesta	33
V.	ANÁLISIS ECONÓMICO	41
VI.	CONCLUSIONES	42
VII.	RECOMENDACIONES	42
VIII.	ANEXOS	44
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
	INDICE DE ANEXOS	
Anexo 1.	Transplante de plantines a macetas	44
Anexo 2.	Contaminación del sustrato con esclerocios	45
Anexo 3.	Etapas de aparición de los síntomas de la enfermedad	46
Anexo 4.	Esclerocios y germinación de <i>Sclerotinia ssp</i>	46
Anexo 5.	Pruebas de patogenicidad	47
Anexo 6.	Zona de inoculación de <i>Sclerotinia ssp</i>	47
Anexo 7.	Esclerocios, <i>Sclerotinia. Minor</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	48
Anexo 8.	Colonias de <i>S. minor</i> y <i>S. sclerotiorum</i>	48
Anexo 9.	Ciclo de vida de <i>Sclerotinia ssp</i>	49
Anexo 10.	Distribución de plantas infestadas en la prueba de patogenicidad	54
Anexo 11.	Fases de crecimiento de la lechuga	50

Anexo 12.	Enfermedades del cultivo de la lechuga causada por hongos	51
-----------	---	----

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

Foto N° 1.	Estado terminal de planta enferma	7
Foto N° 2.	Desarrollo de hifas del fitopatógeno en base de la planta	7
Foto N° 3.	Esclerocios (A) <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (B) <i>S. minor</i>	10
Foto N° 4.	Micelio y Conidias de <i>Trichoderma inhamatum</i>	15
Foto N° 5	Toma de muestras del sustrato infestado	21
Foto N° 6	Aislamiento de <i>Sclerotinia minor</i>	23
Foto N° 7	Hifas de <i>Sclerotinia minor</i>	24
Foto N° 8	Aislamiento de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	24
Foto N° 9	Hifas de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	25
Foto N° 10	Esclerocios de <i>Sclerotinia minor</i>	26
Foto N° 11	Esclerocio de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	26
Foto N° 12	Prueba de patogenicidad de <i>Sclerotinia minor</i>	26
Foto N° 13	Prueba de patogenicidad de <i>S. sclerotiorum</i>	28
Foto N° 14	Tejido foliar infectado	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1	Ubicación geográfica del experimento	17
Figura N° 2	Ubicación de masetas al interior del invernadero	18
Figura N° 3	Diseño del accesorio muestreador de suelo	21

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico N° 1	Diámetro de cabeza por tratamiento	33
Grafico N° 2	Número de hojas por tratamiento	35
Grafico N° 3	Peso de planta por tratamiento	37
Grafico N° 4	Porcentaje de incidencia de la enfermedad	39
Grafico N° 5	Eficiencia del bioinsumo	40
Grafico N° 6	Incidencia del fitopatógeno	40
Grafico N° 7	Eficiencia de las frecuencias de aplicación del bioinsumo	40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1	Densidad de esclerocios en los sustratos post infección	29
Cuadro N° 2	Temperaturas durante el periodo de cultivo	31
Cuadro N° 3	ANVA para el diámetro de cabeza	32
Cuadro N° 4	Comparación de medias de tratamientos	33
Cuadro N° 5	ANVA párale número de hijas	34
Cuadro N° 6	Medias del número de hojas por tratamiento	35
Cuadro N° 7	ANVA para el pesote cabeza	36
Cuadro N° 8	Comparación de medias de los tratamientos	37

RESUMEN

La enfermedad de la lechuga conocida como “Moho blanco” o “Esclerotiniosis” es causada por dos especies estrechamente relacionadas que son *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*, las cuales causan pérdidas considerables en el cultivo de lechuga. Las dos especies presentan dinámicas de infección diferentes; *S. sclerotiorum* infecta principalmente por ascosporas, *S. minor* lo hace por esclerocios.

Determinar la eficiencia de *Trichoderma inhamatum* como antagonista de fitopatógenos fue el objetivo general del ensayo. Los resultados obtenidos demuestran la importancia del bioinsumo en su acción biofungicida controlando la enfermedad y logrando una menor incidencia del fitopatógeno, observando a la vez una disminución paulatina de la enfermedad en el cultivo.

Se determinó que la especie predominante en el ensayo fue *S. minor* que presentó una incidencia del 52% donde el patógeno afectó más la población de plantas sometidas a la prueba, mientras que *S. sclerotiorum* presentó una incidencia del 32%.

La densidad de esclerocios fue baja en las muestras tomadas del sustrato después de las aplicaciones del bioinsumo, asumiendo esta disminución la acción antagónica de *Trichoderma* que disminuyó el desarrollo del fitopatógeno. La aplicación del bioinsumo con una frecuencia de 7 días y a una dosis de 60 cm³ fue el tratamiento que mostró los mejores resultados de control en el ensayo.

ABSTRACT

The disease of lettuce known as white mold or esclerotinial is caused by two closely related species are *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotinia minor*, which cause considerable losses in the cultivation of lettuce. The two species have different infection dynamics; *S. sclerotiorum* infects mainly by ascospores, *S. minor* does it for sclerotia.

Determining the efficiency of *Trichoderma spp* as phytopathogenic antagonist was the overall objective of the test. The results demonstrate the importance of Bio-biofungicide action in controlling the disease and achieving a lower incidence of the plant pathogen, while noting a gradual reduction of the disease in the crop.

It was determined that the predominant species in the trial was *S. minor* which has an incidence of 52% where the pathogen population affected more plants subjected to the test, while *S. sclerotiorum* has an incidence 32%.

The density of sclerotia was low in the samples from the substrate after application of Bio-products, assuming this decrease the antagonistic action of *Trichoderma* which decreased the development of the plant pathogen. The application of Bio-products with a frequency of 7 days at a dose of 60 cm³ was the treatment that showed the best control results in the test.

I. INTRODUCCIÓN.

La horticultura en Bolivia ha venido adquiriendo gran importancia en los últimos años por presentarse como uno de los sectores que ha contribuido en la generación de empleos directos e indirectos.

Actualmente la lechuga es una de las hortalizas de más cultivo en carpas solares ocupando el 72% de éstas. Es uno de los productos de mayor importancia en materia de oferta hortícola, pero su rendimiento promedio es muy bajo debido a la incidencia de enfermedades e insectos plaga.

Las enfermedades se constituyen como parte importante de la problemática fitosanitaria en la producción de lechuga donde *Sclerotinia* sp. es un hongo fitopatógeno que promueve la enfermedad y es responsable de pérdidas por encima del 50% de los cultivos.

Para el control del moho blanco se van utilizado principalmente fungicidas sintéticos lo cual representa cerca del 20% de los costos directos de producción.

El Objetivo General del ensayo fue evaluar la eficiencia de *Trichoderma i.* antagonista natural de fitopatógenos para controlar la enfermedad causada por *Sclerotinia s.*

Los objetivos específicos fueron:

- a) Conocer los efectos de *Trichoderma i.* en las variables de respuesta,
- b) Determinar la especie de *Sclerotinia sp.* fitopatógeno predominante en el cultivo de lechuga durante el ensayo,
- c) Establecer la dosis y frecuencia de aplicación del bioinsumo para el control del fitopatógeno en condiciones de invernadero.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cultivo de la lechuga

La lechuga como cultivo se originó probablemente en la cuenca mediterránea, una prueba evidente es la existencia de una forma primitiva de lechuga casi silvestre conocida como *Lactuca serriola* L., comúnmente llamada lechuga espinosa. Los primeros informes escritos referentes al cultivo de la lechuga se atribuyen a Herodoto, en el que menciona que la lechuga aparecía en las mesas reales de Persia en el año 550 (A.C.) Posteriormente fue descrita por autores griegos como Hipócrates, quien en el año 430 (A.C.) le atribuyó propiedades medicinales; Aristóteles en el año 356 (A.C.) y Galeno, quien en el año 164 (D.C.) la describió como una hortaliza popular. La lechuga fue popular y cultivada en la antigua Roma, (Davis et al, 2002).

2.1.1. Clasificación taxonómica.

La lechuga es una planta anual, autógena, perteneciente a la familia Asteraceae y cuyo nombre botánico es *Lactuca sativa* L.

Clasificación taxonómica de la lechuga.

Reino	Plantae-Plantas
Subreino	Tracheobionta - Plantas Vasculares
Superdivisión	Spermatophyta- Plantas con semilla
División	Magnoliophyta -Plantas con flores
Clase	Magnoliopsida - Dicotiledóneas
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Genero	<i>Lactuca</i> L.
Especie	<i>Lactuca sativa</i> L.

Tomado de USDA, NRCS. (2006)

2.1.2. Morfología.

La planta de lechuga se caracteriza porque la raíz no sobrepasa los 25cm. de profundidad es pivotante y con ramificaciones, las hojas están dispuestas en roseta, desplegadas al principio y se acogollan más tarde formando la cabeza, el borde de los limbos puede ser liso, ondulado o aserrado, su tallo es cilíndrico, la inflorescencia presenta capítulos florales amarillos dispuestos en racimos o corimbos, las semillas están provistas de un vilano plumoso, (Chávez y Medina, 2003).

2.1.3. Condiciones agro ecológicas para el cultivo de lechuga

2.1.3.1. Temperatura y humedad relativa

La temperatura media óptima para el desarrollo normal de la planta de lechuga es de

15 a 18°C con máximas de 21°C y mínimas de 7°C. Las temperaturas extremas inducen la emisión prematura de los tallos florales y afectan la calidad del producto de consumo, debido a la acumulación de látex en las venas. (Osorio y Lobo, 1983).

La humedad relativa óptima para el cultivo de lechuga es de 60 a 80%. La humedad ambiental excesiva favorece el desarrollo de enfermedades. (Chávez y Medina, 2003).

2.1.3.2. Suelo

Todos los suelos son buenos para el cultivo de la lechuga, sin embargo se desarrolla muy bien en suelos con alto contenido de materia orgánica. (Osorio y Lobo, 1963).

Teniendo en cuenta que el sistema radicular de la lechuga no es muy extenso los suelos que retienen la humedad y que a la vez presentan buen drenaje son los mejores; las mejores texturas son las franco-arcillosas y franco-arenosas. El pH más apropiado es de 5.2 a 5.8 en suelos orgánicos y de 5.5 a 6.7 en suelos minerales, si el suelo mineral tiene un pH menor de 6.0, es recomendable aplicar cal. (Osorio y Lobo, 1983).

2.1.4. Siembra.

La lechuga es una hortaliza típicamente de transplante, aunque también puede sembrarse en forma directa. Tradicionalmente la siembra se hace en semilleros, en épocas frías en las que son protegidos. Como el tamaño de la semilla es muy pequeño, suele cubrirse con una capa delgada de suelo.

La semilla de la lechuga germina mejor en suelos con temperatura entre 20 y 26°C con óptimas de 24°C. En estas condiciones las plántulas emergen a los dos o tres días después de sembradas. La semilla de un año de edad germina mejor que la nueva a una temperatura del suelo de 30 °C. (Osorio y Lobo, 1983).

2.1.4.1. Transplante

El transplante se realiza cuando las plántulas han alcanzado una altura de 8 a 12 cm. También se puede transplantar cuando las plántulas hayan desarrollado de 4 a 6 hojas verdaderas. El trasplante se puede realizar en hileras separadas de 40 a 50 cm. y entre plantas 25 cm.

2.1.4.2. Desarrollo de la planta

Las plantas de lechuga pasan por tres fases de desarrollo; plántula, un periodo de roseta y formación de cogollo.

Durante el desarrollo de la plántula, desde la germinación hasta el momento de transplante, las condiciones de germinación son críticas para una producción adecuada de lechugas. Para la germinación de las semillas se requiere unas condiciones adecuadas de humedad y oxígeno y unas temperaturas favorables. Una vez que la semilla de lechuga embebe agua, germina rápido; la emergencia depende de las temperaturas. Las raíces jóvenes se alargan típicamente hasta unos 25 cm. en la primera etapa de desarrollo. Las primeras hojas verdaderas emergen inmediatamente después de los cotiledones y se inicia la fotosíntesis, aunque la lechuga desarrolla una raíz principal, existe un considerable crecimiento de las raíces laterales.

La mayor parte de las raíces tiene menos de 0,5 mm de diámetro. La profundidad real de enraizamiento está en función del tipo de suelo, del

suministro de oxígeno y del drenaje. El trasplante se realiza con tres a cuatro hojas, que aproximadamente tiene lugar 3 a 4 semanas después de realizado el almacigo. (Davis et al, 2002).

Durante la fase de roseta, se forman continuamente hojas en el punto de crecimiento del tallo relativamente corto, que raramente excede los 10 cm. en la lechuga acogollada. Las hojas de esta lechuga tienen pecíolos cortos y se expanden normalmente durante el primer crecimiento. El acogollamiento comienza cuando las hojas de la roseta comienzan a curvarse hacia dentro. Las hojas nuevas se forman continuamente y llenan el interior hasta que se forma un cogollo sólido y maduro. Las lechugas se recolectan cuando alcanzan la madurez, formando un cogollo sólido después de 120 a 160 días. La lechuga se cosecha manualmente. (Davis et al, 2002).

2.1.4.3. Riegos

La frecuencia y cantidad de riegos depende del tipo de suelo, del tamaño de la planta y del clima. Se debe tener cuidado de no aplicar agua en exceso la lechuga requiere de 300 a 600 mm de agua durante todo su ciclo, para su normal desarrollo. (Osorio,1983).

El momento oportuno para el riego es en las primeras horas de la mañana o en las últimas de la tarde; si se riega cuando el suelo y la planta tienen una temperatura elevada, pueden originarse desequilibrios que den lugar al amarillamiento de las hojas y al cese de la vegetación.

2.2. Enfermedades y plagas

La resistencia o susceptibilidad en los cultivares de lechuga y la virulencia o avirulencia de un patógeno, son consideradas fundamentales en el desarrollo de las enfermedades de lechuga, las enfermedades infecciosas pueden ser causadas por agentes como lo son bacterias, virus, fitoplasmas, hongos y nematodos. Davis et al (2002). Un insecto plaga de importancia económica es el áfido *Myzus persicae* o más conocido como pulgón verde que es un insecto chupador. (Sánchez y Moreno, 2004).

2. 3. Moho blanco en lechuga

La enfermedad del moho blanco ocurre a nivel mundial y causa pérdidas significativas en los cultivos de lechuga, cuyo agente causal son dos especies estrechamente relacionadas, *S. minor* Jagger y *S. sclerotiorum* (Lib.) De Bary (Hao y Subbarao, 2005).



Fuente propia
Foto N° 1 Estado terminal de la planta de lechuga por acción patológica de la enfermedad



Fuente propia
Foto N° 2 Desarrollo de hifas del fitopatógeno en la base de la planta infectada

2.3.1. *Sclerotinia minor* Jagger

2.3.1.1. Taxonomía de *Sclerotinia* ssp.

Es un fitopatógeno cuya clasificación taxonómica es:

Reino	Fungi
Filum	Ascomycota
Clase	Ascomycetes
Orden	Heloteliales
Familia	Sclerotiniaceae
Genero	<i>Sclerotinia</i>
Especie	<i>S. minor</i> .
	<i>S. sclerotiorum</i> .

Tomado de Globalbiodiversity information, (2006)

2.3.1.2. Características generales

Se caracteriza por producir esclerocios esféricos con diámetro entre 0.5 mm. a 2 mm.

aproximadamente. Infecta primariamente la lechuga por la germinación de esclerocios los cuales producen masas de hifas que entran en contacto con las raíces, corona y hojas senescentes de la planta. Las condiciones óptimas para la germinación de los esclerocios es a una temperatura de 15°C y una humedad del suelo. Los esclerocios presentan germinación carpogénica, aunque rara vez ha sido observada en la naturaleza, presentando ascosporas que se caracterizan por contener cada una 4 núcleos (Melzer et al. 1994).

2.3.1.3. Rango de huéspedes

Este índice contiene 21 familias, 66 géneros y 94 especies de plantas. Todos los huéspedes de *S. minor* se encuentran dentro de la clase Angiospermae de la división de plantas Espermatófitas (Hao et al. 2003).

2.3.1.4. Etiología y epidemiología

La infección ocurre principalmente por la emergencia de micelio cerca a la planta infectada. Las plantas pueden ser atacadas desde la etapa de semillero hasta la madurez. (Wiifeets y Wong, 1980).

La incidencia de la enfermedad esta correlacionada con el número de esclerocios en el suelo, aunque un sólo esclerocio viable dentro de una zona de competencia puede causar infección La zona de competencia está definida como la máxima distancia y profundidad a las cuales el esclerocio puede causar infección. (Subbarao et al, 1996).

2.3.2. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.)De Bary

2.3.2.1. Características Generales

Se caracteriza por producir esclerocios de textura suave, de forma alargada y con un tamaño que oscile entre 2 mm a 10 mm aproximadamente. Infecta primariamente la lechuga por ascosporas provenientes del aire, las cuales se caracterizan por ser binucleadas. La infección por esclerocios aunque rara vez es observada se presenta en condiciones de temperatura de 10°C y una

humedad del suelo, lo que equivale a una mayor tolerancia a la saturación del suelo como condiciones de baja de humedad cual es un rango de tolerancia mucho más amplio que *S. minor*. (Subbarao et al, 1996).

2.3.2.2. Rango de huéspedes

Incluye 408 especies, 278 géneros y 75 familias de plantas. La mayoría de las especies reportadas están en las plantas herbáceas de la subclase Angiospermae de las Dicotiledóneas (Subbarao et al, 1996).

2.3.2.3. Etiología y epidemiología

La infección puede ocurrir por la germinación carpogénica y miceliogénica, dependiendo de las condiciones del ambiente. Los esclerocios que germinan carpogénicamente producen ascosporas que infectan la superficie de los tejidos de la planta. Las ascosporas requieren de alta humedad y tejido senescente que sirve como fuente de nutrientes para que se produzca la germinación e infección de los tejidos de la superficie. Bardin y Huang, (2000). La infección se caracteriza por formar lesiones acuosas, en las cuales se desarrolla tejido necrótico con subsecuente aparición de micelio blanco que forma esclerocios estos últimos pueden germinar carpogénica o miceliogénicamente y así iniciar un nuevo ciclo de infección. (Bolton et al, 2006).

2.3.2.4. Fisiología

El crecimiento de éste hongo presenta un rango óptimo de temperatura de 20 a 30°C y pH entre 3,4 a 4. En cuanto a los requerimientos nutricionales de *S. sclerotiorum*, presenta un mayor crecimiento en fuentes de nitrógeno dentro de las que se encuentra y 12 aminoácidos, sales de amonio, nitrato, urea, peptona y caseína hidrolizada; como fuentes de carbono se encuentran la sacarosa, mantol, almidón y celobiosa.

En concentraciones de 2,7% de oxígeno se ve fuertemente inhibido el crecimiento del hongo. (Bolton et al, 2006).

2.3.3. Biología del Esclerocio

Son estructuras duras y resistentes, formadas por agregación de hifas, usualmente consisten en continuas capas de células pseudoparenquimatosas melanizadas conocidas como corteza, las cuales se forman en la superficie externa y encapsulan la hifa. El desarrollo del esclerocio comprende tres etapas:

- a) Iniciación, en la que la hifa comienza a agregarse;
- b) Desarrollo o crecimiento a un tamaño determinado y
- c) Maduración, la cuál involucra la delimitación de la superficie y pigmentación de la hifa periférica (Wifetts y Butlock et al. 1992).

Durante el desarrollo del esclerocio se acumulan reservas endógenas de trehalosa, manitol y arabinol, además de pequeñas cantidades de glucosa, fructosa y manosa que le sirven de sostén durante el periodo de blenda y eventualmente durante la germinación. Entre las mayores reservas citoplasmáticas que han sido detectadas están el glicógeno y los polifosfatos, los cuales son depositados como gránulos en el citoplasma. La composición de la pared de las hifas del esclerocio contiene quitina como el mayor componente junto con B-glucanos de uniones 1-3 y 1-6. La longevidad de los esclerocios en el suelo por lo general es de 2 años, algunos estudios sugieren la viabilidad esclerotial menores de dos años hasta once años. (Wifets et. al, 1992).



Fuente propia

Foto N° 3. Esclerocios:
(A) *Sclerotinia sclerotiorum*
(B) *Sclerotinia minor*

2.3.4. Mecanismos de patogénesis de *Sclerotinia spp.*

2.3.4.1. Enzimas de la patogénesis

La patogénesis puede ser facilitada en sus huéspedes por la producción de un amplio rango de enzimas degradadoras de la pared celular, en las que se incluyen pectinasas, glicosidasas, celulosas, xanasas y cutinasas, dando una gran flexibilidad al patógeno para la penetración y colonización del huésped. (Bolton et al, 2006).

Las proteínas extracelulares secretadas por el hongo son capaces de degradar el tejido vegetal al igual que los componentes de la pared celular especialmente los polisacáridos la pectina es el mayor constituyente de la pared celular. (Riou et al, 1991).

S. sclerotiorum posee un complejo de enzimas exocelulares pécticas, dentro de las que se encuentran las exopoligalacturonas y las endopolimetagalacturonasas, las cuales se encargan de fragmentar los grupos de dímeros o monómeros glicosilados de los polisacáridos de la pared celular péctica, resultando en la fragmentación del sustrato y obtención potencial de nutrientes. (Bolton et al, 2006).

Las endopoligalacturonasas han sido ampliamente estudiadas, debido a que su acción aleatoria en el ataque del sustrato que esta estrechamente relacionado con la degradación del tejido, en un estudio realizado por Kasza et al. (2004) citado por Bolton et al. (2006), se identificó el gen que codifica para la expresión de endopoligalacturonasas a las 48 y 72 horas después de la inoculación del tejido de plantas sanas, el cuál se relaciona con la fase de degradación del tejido. Otro grupo de enzimas líticas que juegan un papel importante en la patogénesis son las proteasas, no sólo en la degradación de proteínas de la planta hospedera que son la principal fuente de nitrógeno para el hongo, sino también porque degrada enzimas antifúngicas producidas como defensa por la planta infectada.

2.3.4.2. Acido oxálico

El ácido oxálico es un compuesto que se puede encontrar como ácido libre, en forma soluble como oxalato de sodio o potasio e insoluble como oxalato de calcio, el cual es frecuentemente asociado a desordenes metabólicos como enfermedades infecciosas, un amplio número de hongos fitopatógenos secreta ácido oxálico incluyendo a *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor* . (Malcom et al, 2005).

La capacidad de sintetizar ácido oxálico se ha considerado un factor determinante para la patogénesis, estudios previos realizados en el que se trataron plantas de fríjol común y girasol con ácido oxálico sintético y el filtrado de un cultivo fúngico de *S. sclerotiorum*, obteniendo como resultado los mismos síntomas exhibidos por las plantas naturalmente infectadas en campo. Otro estudio realizado por Godoy et al.(1990) en el que se trataron pétalos de girasol con micelio de *S. sclerotiorum* tipo silvestre (OA+) y mutantes deficientes en la biosíntesis de ácido oxálico (OA-), los cuales resultaron ser menos patogénicos, presentar un crecimiento de un 19 a 28% más bajo (OA+) y la incapacidad de formar esclerocios.

Aunque el mecanismo específico del ácido oxálico durante la infección no es muy claro, todavía se valida la propuesta de su papel que se centra en tres modos de acción:

Primero, la secreción del ácido oxálico causa un descenso apoplástico del pH, que favorece la actividad de varias enzimas fúngicas secretadas durante la invasión de tejidos de la planta como las poligalacturonasas que cuya máxima expresión es posible a pH bajo, del mismo modo las condiciones de bajo pH favorecen la formación de esclerocios.

Segundo, el ácido oxálico puede ser directamente tóxico a las plantas hospederas debido a la acidez debilitando la planta y haciéndola más susceptible al subsecuente crecimiento fúngico y Tercero, la quelación del calcio de la pared celular por parte del anión oxalato. (Bolton et al, 2006).

2.4. Métodos de Control.

La incidencia de la enfermedad se puede reducir si se previene la formación de los

esclerocios en el suelo y en los residuos de plantas. Muchos estudios de la biología de *Sclerotinia spp* han brindado información para la implementación de métodos de control, (Wilfetts, 1992).

2.4.1. Métodos físicos y culturales

Dentro de estos métodos se encuentran prácticas culturales como el arado y el riego que afectan enormemente la distribución de los esclerocios, (Wu y Subbarao, 2003).

2.4.2. Métodos Químicos

Es el principal método aplicado para el control de *Sclerotinia spp*. Existe variedad de sustancias químicas que han sido desarrollados, (Matheron y Porchas, 2004).

Debido al uso continuo de éstas sustancias, se ha reportado el desarrollado de resistencia por parte del hongo a fungicidas específicos. Ésta resistencia aparece como consecuencia de los largos periodos y frecuencias de la exposición del patógeno como lo mencionan reportes realizados por Porter y Phipps (1985), quienes proveen evidencia de la resistencia de *S. minor* a los fungicidas cuyo ingrediente activo era benomil, dicloran y procimidona.

2.4.3. Control Biológico de Enfermedades

Control Biológico definido como la reducción de la densidad del inóculo o de las actividades de un patógeno que produce una enfermedad, por uno o más organismos, en forma natural a través de la manipulación del medio ambiente, hospedero o antagonista, o por la introducción de una población de uno o más antagonistas, (Baker y Cook, 1974). Esta definición refleja que el Manejo Integral de poblaciones es más que una acción específica dirigida a un sólo patógeno, como podría ser en el uso de productos químicos, (Arcia, 1995).

Se conocen las interrelaciones de organismos biocontroladores con diferentes hospedantes y patógenos, su aplicación como biofungicidas es reciente y aún no completamente implementada debido en parte a que se requiere la selección de un aislamiento “intrínsecamente antagónico” así como de su producción y formulación en grandes cantidades y abajo costo que garantice su supervivencia en el suelo o en la semilla, las inconsistencias encontradas en el Control Biológico de patógenos con antagonistas potenciales es un proceso a largo plazo que se debe implementar con el manejo habitual del cultivo, (Pineda y Tortolero, 1995).

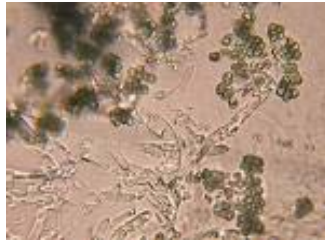
El control biológico de patógenos del suelo, a través de la adición de microorganismos antagonistas, es un medio no químico (no contaminante) potencial para el control de enfermedades de plantas. Sin embargo, debido a varios factores ambientales, la mayoría de los hongos antagonistas no muestran efectos consistentes de biocontrol, por lo tanto es necesario reducir la variabilidad y garantizar su persistencia en el campo para convertir a los hongos biocontroladores en una alternativa atractiva al uso de pesticidas químicos, (Thrane C. 1995).

2.5. Características de *Trichoderma ssp.*

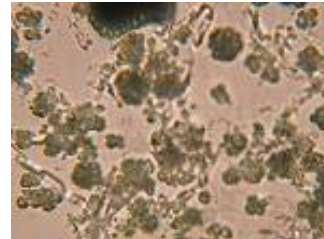
Trichoderma ssp. es un hongo que en su cultivo en placas toman un color verde brillante debido a los conglomerados de conidias que se forman en las puntas de las hifas; sin embargo, se ha señalado que también pueden ser de color blanco o amarillo, han sido varias las especies señaladas de *Trichoderma ssp.* las cuales tienen variada distribución geográfica las más importantes son:

<i>T. pseudokoningii</i>	Condiciones de excesiva Humedad
<i>T. viride</i> y <i>T. polysporun</i>	Regiones de temperaturas frías
<i>T. harzianum</i>	Regiones de temperaturas cálidas
<i>T. koningii</i> y <i>T. inhamatum</i>	Ampliamente distribuidas

Velásquez y Pineda (1995).



Fuente propia



Fuente propia

Foto 4. Micelio y Conidias de *Trichoderma i.* al microscopio
Trichoderma inhamatum se clasifica como se muestra a continuación

Reino	Fungi
Phylum	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Hypocreaceae
Género	<i>Trichoderma</i>
Especie	<i>Trichoderma inhamatum</i>

2.5.1. Requerimientos de temperatura de *Trichoderma i.*

Trichoderma i. es un hongo con una alta capacidad de tolerar un amplio rango de temperaturas, las temperaturas óptimas para el crecimiento fueron de 25 a 30°C.

2.5.2. Necesidades Nutricionales de *Trichoderma i.*

Trichoderma i. es un hongo que consume otros hongos, materia orgánica y nutrientes secretados por las raíces.

La cantidad de nutrientes influye en la densidad del micelio, pero no en el crecimiento, la densidad del micelio, proveniente de pellets de alginato, con un contenido de 95 % de harina de trigo, fue notoriamente mayor, que en pellets con sólo un 3 % de harina, pero el largo del micelio para ambos pellets fue el mismo y determinaron que el crecimiento micelial es independiente de la cantidad de alimento y directamente proporcional a su densidad, (Larenas y Montealegre, 1995).

2.5.3. Capacidad antagonista de *Trichoderma i.*

La capacidad antagonista de *Trichoderma i.* es altamente variable, las cepas aisladas del mismo lugar son más efectivas que las traídas de fuera y el mejor aislamiento es aquel que proviene de la misma zona, (Lifshits, y Baker, 1986).

2.5.4. Mecanismos de acción

Los mecanismos de biocontrol referidos para *Trichoderma i.* son el micoparasitismo donde compete por los nutrientes en el exudado de las semillas y Antibiosis principales mecanismos de acción de *Trichoderma i.* Este agente biocontrolador envuelve el hongo a atacar y penetra sus células causándole un daño extensivo, (Elad, 1983)

Los mecanismos de acción son:

- Alteración de la pared celular, incluyendo la degradación de ésta.
- Retracción de la membrana plasmática
- Desorganización del citoplasma.

También actúa sobre la replicación celular al inhibir la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo.

Asimismo se sugiere como mecanismo de acción, la reducción del drenaje de metabolitos desde la raíz, cuando ésta es colonizada por *Trichoderma i.* el biocontrolador intercepta metabolitos críticos para activar la germinación de los propágulos del patógeno en el suelo, (Lo y Harman, 1996).

2.5.5. Enzimas producidas por Trichoderma

La pared celular de los hongos está formada principalmente por quitina y β -1,3 glucanos embebidas en una matriz de material amorfo, por lo tanto se espera que para el éxito de la degradación de la pared celular intervengan más de una enzima *Trichoderma spp.* es eficiente productora de polisacaridasas, proteasas y lipasas, compuestos que pueden ser usados en la degradación de la pared de las células del fitopatógeno.

III. METODOLOGÍA

3.1. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1. Localización

El presente estudio se instaló y efectuó en la localidad de Chicani, ubicada en la

Primera Sección del municipio de Palca, Provincia Murillo del Departamento de La Paz, cuya ubicación geográfica es 16 ° 34' Latitud Sud, 67 ° 59' longitud Oeste, y una altitud de 3425 m.s.n.m.

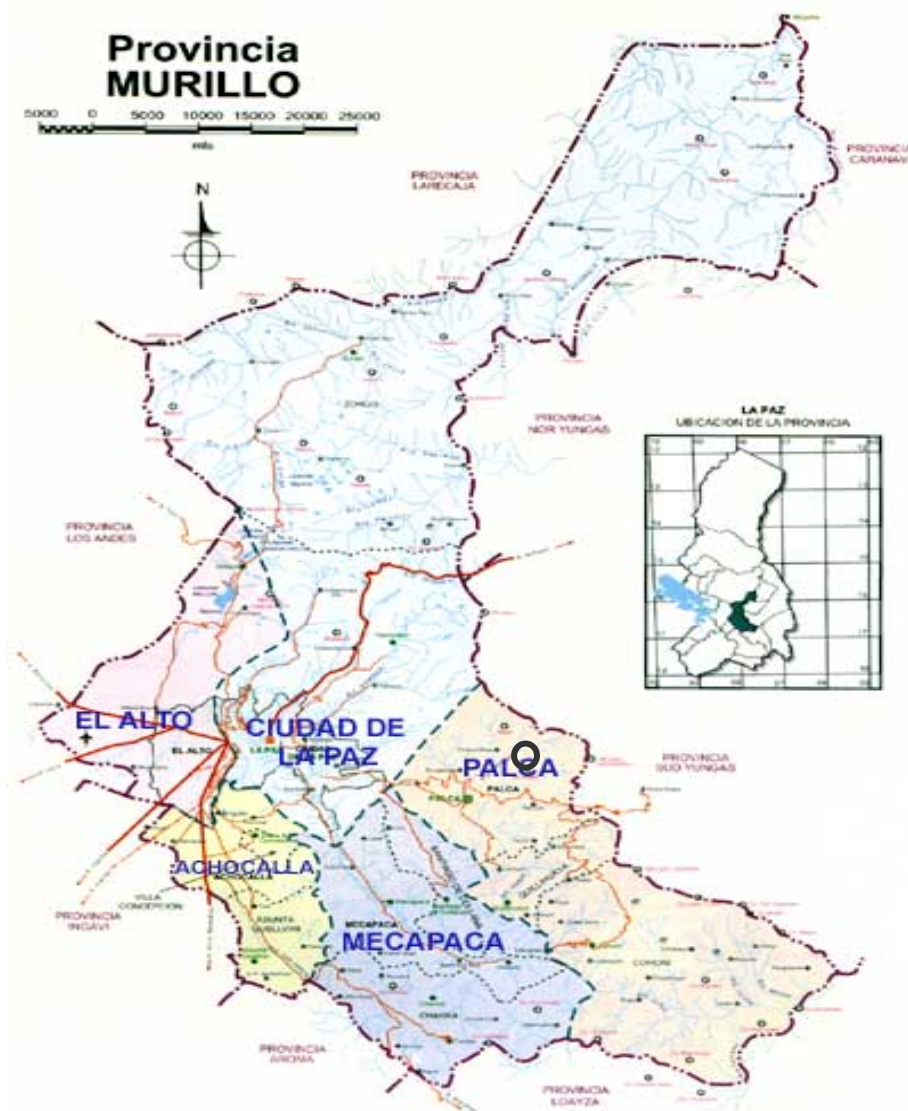


Figura N° 1

○ Comunidad Chicani,

3.1.2. Materiales.

3.1.2.1. Componentes de la investigación

- Antagonista: cepas de *Trichoderma inhamatum*, (Bioinsumo)
- Fitopatógeno: *Sclerotinia ssp* (esclerocios)¹,
- Material Vegetal: Lechuga variedad de White Boston

3.2. Métodos.

3.2.1. Análisis estadístico

La investigación se acomodó en un arreglo factorial adecuado en un Diseño Completamente al Azar:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Factores de estudio:

Factor A = frecuencias de aplicación del antagonista

Factor B = dosis de aplicación del antagonista.

3.2.2. Establecimiento del experimento

Las macetas se colocaron al interior del invernadero para aplicar los tratamientos, su observación y la toma de datos durante el ciclo vegetativo del cultivo hasta la cosecha.

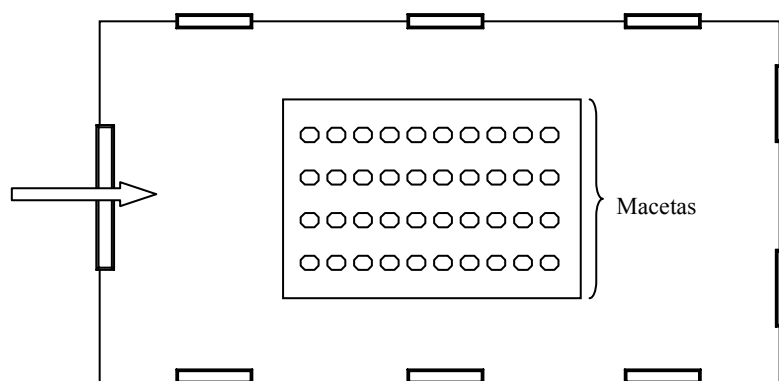


Figura N° 2. Diagrama de ubicación de macetas al interior del invernadero

¹- (Estructura reproductiva del fitopatógeno)

3.2.2.1. Transplante

Para iniciar la experimentación se realizó el trasplante de los plantines del almácigo a las macetas.

3.2.2.2. Infestación con el fitopatógeno

Una vez efectuado el transplante se infectó con esclerocios el sustrato de las macetas.

3.2.2.3. Observación del proceso de infección.

El ciclo de la enfermedad inicia en el suelo cuando las estructuras de reposo, denominadas 'esclerocios', comienzan el proceso de germinación que produce apotecios los cuales forman ascosporas en la cual el esclerocio produce un micelio que ataca las partes de la planta que están en contacto con la superficie del suelo, la dispersión del inóculo de la enfermedad se da a través del micelio.

Los síntomas en la lechuga se manifiestan hacia el final del ciclo del cultivo: hay marchites de las hojas externas de la planta, con la presencia de crecimiento micelial algodonoso blanco hacia la parte basal o central del tallo, a partir del cual se forman unos cuerpos compactos, los esclerocios, estructuras de reposo compuestas por una porción interna de color claro llamada médula y una cubierta externa negra llamada corteza donde la colonización inicial de los tejidos muertos provee nutrientes para el establecimiento del patógeno y recursos para infectar tejidos sanos de la planta.

Para el análisis se tomo en cuenta los siguientes parámetros:

- a. Numero de plantas de lechuga no afectadas por la enfermedad.
- b. Plantas enfermas con los síntomas característicos causados por *Sclerotinia spp.* (Hojas con pérdida de turgencia, presencia de micelio de color blanco, hojas cloróticas y pudrición acuosa).
- c. Plantas muertas a causa de la enfermedad (tejido necrótico y pudrición generalizada)

3.2.2.4. Aplicación del bioinsumo antagonista en las macetas

Se procedió a las aplicaciones del bioinsumo tomando en cuenta las 3 dosis y los 2 intervalos de aplicación con frecuencias de 7 y 14 días en función al cronograma establecido. Las aplicaciones se realizaron a partir de las 17:30 horas para optimizar el establecimiento y la acción antagónica de *Trichoderma i.* en el cultivo, se procedió con la misma acción para las tres dosis y las dos frecuencias de aplicación del bioinsumo.

3.3. Determinación del agente causal del moho blanco en lechuga

Para ejecutar el aislamiento de *Sclerotinia ssp* se recolectaron hojas que presentaron síntomas característicos de la enfermedad en el cultivo y se llevaron al laboratorio donde se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2.5% por 2 minutos, ejerciendo agitación constante, tratando de cubrir las hojas con el desinfectante. Posteriormente se realizaron dos lavados consecutivos con agua destilada estéril. Se permitió el secado de las hojas, colocándolas sobre toallas de papel absorbente y luego se ubicaron en una cámara húmeda, que consiste en un recipiente plástico con tapa con dos toallas de papel absorbente humedecido con 10 cm³ de agua destilada ésta se llevó a incubación por 5 días a una temperatura promedio de 18 °C.

De las plantas en macetas se tomaron 5 muestras al azar de tejido foliar con síntomas, para cada muestra se realizaron dos aislamientos en medio PDA (papa dextrosa agar) a pH 5 e incubados a 24°C, tomando con un asa recta muestras de micelio color blanco crecido sobre el material vegetal. Los aislamientos obtenidos se cultivaron en medio de cultivo PDA.

La diferenciación de la especie predominante en el cultivo, se realizó mediante el registro de las características microscópicas y macroscópicas durante el crecimiento del patógeno en los diferentes aislamientos, para lo cual se tuvo como referencia las características descritas por Willets y Wong (1980).

3.3.1. Determinación de la población de esclerocios en sustrato

Terminado el ciclo del cultivo y cosechadas la plantas se vació el sustrato de las masetas para determinar la densidad de inóculo entendido como el número de esclerocios por 100cm^3 de sustrato.

Para el muestreo del sustrato de las macetas se tomó una muestra de 100cm^3 de acuerdo con la metodología descrita por Subbarao y Hao (2005). La muestra estuvo compuesta por 4 submuestras tomadas al azar con ayuda del accesorio muestrador para el monitoreo que consistió en un tubo de PVC de 2cm de diámetro y 8cm de largo el cual fue diseñado para tomar 25cm^3 de volumen de suelo.

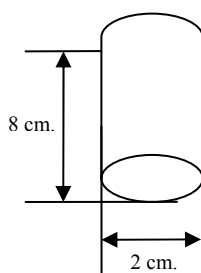


Figura N° 3. Diseño del accesorio muestrador de suelo

Cada muestra se depositó en una bolsa de polietileno debidamente etiquetada.



Fuente propia

Foto N° 5 Toma de muestras del sustrato infestado

Para la recuperación de esclerocios del suelo se empleó la metodología de flotación, dicha metodología que consistió en pasar la muestra de suelo por un tamiz de 1 mm de tamaño de poro.

Las partículas recuperadas se observaron al estereoscopio, los esclerocios encontrados se recuperaron con pinzas y su viabilidad se probó en agar agua, para lo cual los esclerocios se desinfectaron sumergiéndolos en hipoclorito de sodio al 2.5% durante 2 minutos y dos lavados posteriores en agua destilada estéril.

3.3.2. Determinación del fitopatógeno en planta

Este ensayo se realizó con el fin de determinar la habilidad de los aislamientos de *Sclerotinia sp* para causar infección en el tejido foliar de lechuga y de esta misma forma corroborar la morfología de los esclerocios reproducidos in vitro.

Para esto se tomaron trozos de hojas sanas de lechuga variedad White Boston de 12cm de largo por 12cm de ancho, las cuales se desinfectaron previamente sumergiéndolas en hipoclorito de sodio (2,5%) durante dos minutos y posteriormente se lavaron con agua destilada estéril dos veces consecutivas. Se ubicó un trozo de hoja en una cámara húmeda, la cual consistió en un recipiente plástico con dos toallas de papel absorbente en el fondo humedecido con 20 cm³ de agua destilada estéril. Las hojas de lechuga se inocularon con 1 y 2 esclerocios provenientes de los aislamientos de *Sclerotinia sp* de las macetas infectadas las cuales fueron crecidas en medio PDA durante 8 días en condiciones de 24°C y luz constante. Después de la inoculación las cámaras húmedas se llevaron a incubación en un cuarto oscuro con temperatura promedio de 18°C.

Se registraron los síntomas y los signos de la enfermedad en las hojas inoculadas cada 48h durante 8 días y se contaron los esclerocios producidos después de 15 días de la inoculación.

3.4. Factores ambientales del Invernadero

Se registro datos de temperaturas y humedad para constatar la relación de los factores del ambiente controlado con respecto a la acción de control del antagonista.

3.5. Labores culturales

El cultivo de lechuga en invernaderos exige una diferencia de temperaturas entre el día y la noche para el desarrollo eficiente del cultivo durante el periodo vegetativo del cultivo y posterior a la cosecha se procedió a tomar datos del peso y envergadura total de las plantas muestra (diámetro y altura).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

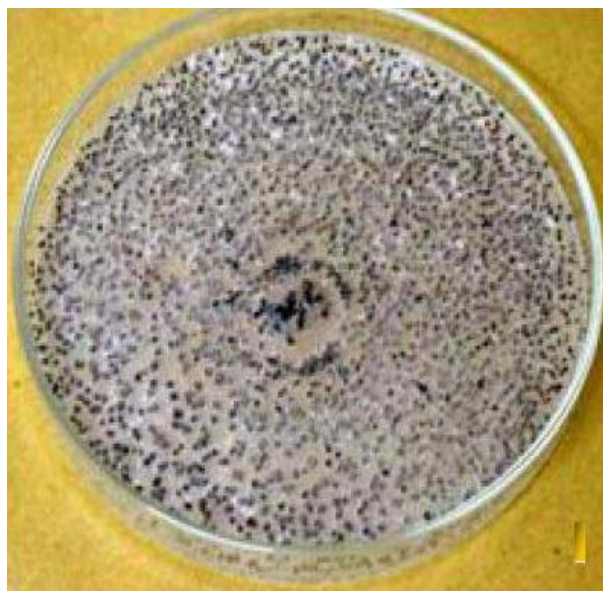
4.1. Identificación de las especies de *Sclerotinia* sp.

La especie predominante en el ensayo que causó la enfermedad fue *Sclerotinia minor*, ya que los aislamientos del material vegetal infectado presento las características macroscópicas como micelio blanco, en caja de petri con medio PDA la formación de esclerocios con un tamaño promedio de $0,87 \pm 0,1$ mm. de diámetro, y distribución concéntrica y uniforme de los mismos en el medio de cultivo (Figura 9) Estas características concuerdan con las descripciones para ésta especie realizadas por autores como Wifets 1992, Melzer 1994 y Subbarao et al. 1995.

Con respecto a las características microscópicas del hongo, se observó al microscopio que éste presentó hifas septadas, hialinas y con granulaciones (Figura N° 10), las cuales se deben al almacenamiento de sustancias como polifosfatos y glucógeno según lo observado y descrito por Wilfets y Bultock (1992).

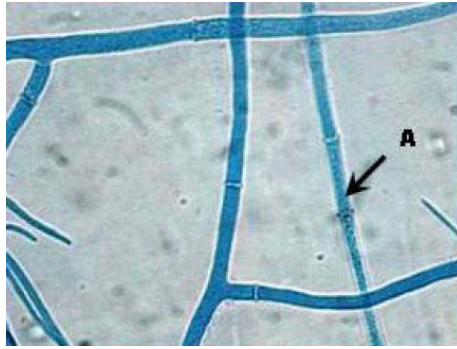


A Fuente propia



B Fuente propia

Foto N° 6. Aislamiento de *Sclerotinia minor* proveniente del cultivo de lechuga, obsérvese la distribución concéntrica de esclerocios (A) y la distribución uniforme de esclerocios (B)



Fuente propia

Foto N° 7. Hifas de *Sclerotinia minor*
vista a 40X. A. Granulaciones

La otra especie causante de la enfermedad en el cultivo fue *S. sclerotiorum*, ya que los aislamientos presentaron micelio blanco con un aspecto algodonoso y esclerocios de forma irregular con un tamaño promedio de $3,6 \pm 0,44$ mm de largo por $2,47 \pm 0,32$ mm de ancho dispuestos en su mayoría hacia el borde de la caja de petri (Figura N° 11), características descritas para la especie por Boland et al. y Bolton et al.



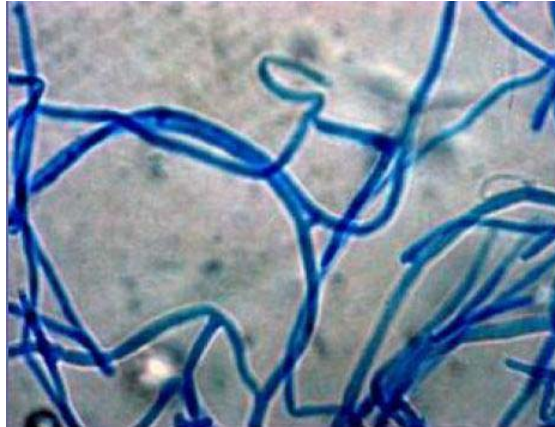
Fuente propia

Foto N° 8. Aislamiento de *S. sclerotiorum*
Obsérvese la distribución de esclerocios en su mayoría hacia el borde de la caja.

Dentro de las características microscópicas, se observó que éste hongo presentó hifas septadas e hialinas, aunque con poca presencia de granulaciones (Figura N° 12), en comparación con las observadas en las hifas de *S. minor*. Esto se debe a que las características microscópicas de las especies pertenecientes al género *Sclerotinia* presentan las mismas particularidades, por lo cual éste es un parámetro poco confiable para diferenciar las especies descrito por Wifets y Butlok, (1992).

Dentro de los rasgos de crecimiento observados, se encontró que los aislamientos de *S. minor* incubados a 24°C en medio PDA, presentaron la

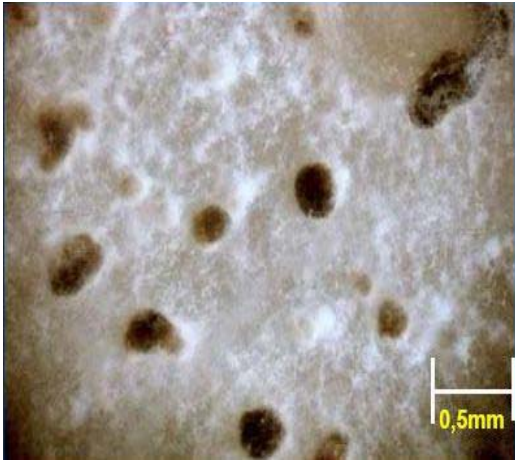
formación de micelio de 3 a 5 días después de la inoculación y se observaron agregaciones de micelio que posteriormente conformaron los esclerocios, esto ocurrió entre 6 a 8 días después de la inoculación. Los aislamientos de *S. sclerotiorum* presentaron la formación de micelio de 4 a 6 días después de la inoculación y la formación de esclerocios desde la compactación de micelio hasta la formación total del esclerocio, con la corteza consistente y de color negro tuvo una duración de 8 a 10 días después de la inoculación.



Fuente propia

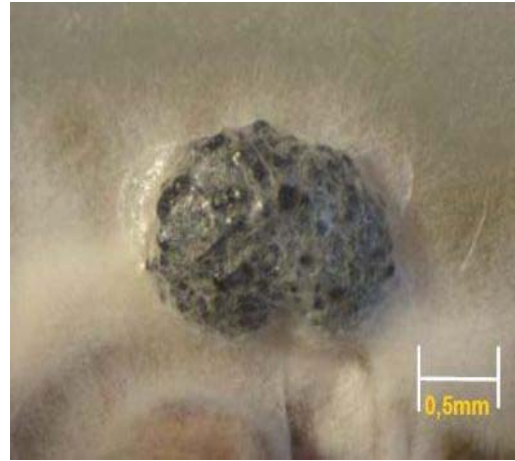
Foto N° 9. Hifas de *Sclerotinia sclerotiorum*. Vista a 40X.

La morfología de los esclerocios es el principal parámetro para diferenciar las especies de *Sclerotinia*. Los reportes científicos mencionan que para la especie de *Sclerotinia s.* los esclerocios presentan forma irregular y con un diámetro de 2 a 10 mm, mientras que en el caso de los esclerocios de *S. minor* tienen forma ovalada con un diámetro de 0,5 a 2mm. Teniendo en cuenta la información citada, las características que presentaron los aislamientos de *Sclerotinia spp*, obtenidos del cultivo de lechuga en el presente estudio, permitieron determinar *S. minor* y de *S. sclerotiorum*.



Fuente propia

Foto N° 10. Esclerocios de *Sclerotinia minor*
Vista en estereoscopio a 3X.

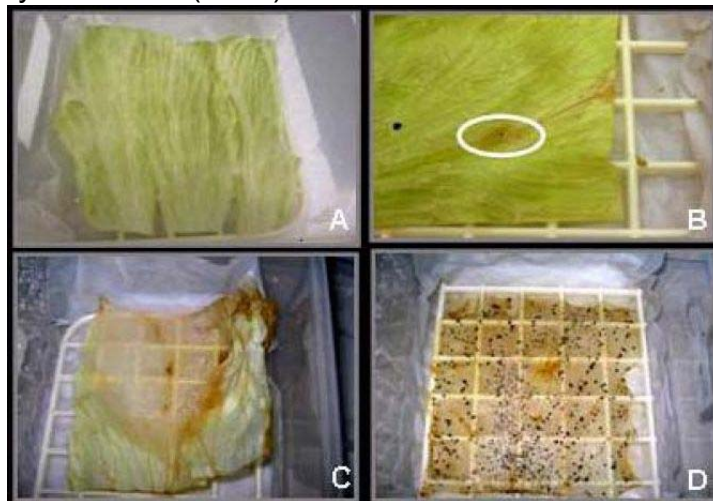


Fuente propia

Foto N° 11. Esclerocio de *Sclerotinia sclerotiorum*
Vista en estereoscopio a 3X.

4.2. Prueba de patogenicidad en planta

En el caso de *S. minor* los síntomas de la enfermedad se evidenciaron entre 3 a 4 días después de la inoculación de los esclerocios, en donde se observó un halo de color marrón en la zona de la inoculación; seis días después de la inoculación se presentó emergencia de micelio desde los esclerocios inoculados y pudrición acuosa generalizada del tejido foliar, lo cuál coincide con lo reportado por Wu y Subbarao (2003).



Fuente propia

Foto N° 12. Prueba de patogenicidad de *Sclerotinia minor* en hojas de lechuga

A. Hoja sin síntomas. B. Halo de infección. C. Producción de micelio, D. Producción de esclerocios

Se observó que el hongo colonizó completamente el tejido vegetal hacia los 10 días después de la inoculación de los esclerocios; la formación de agregaciones de micelio hasta el desarrollo de esclerocios maduros, que presentaron una corteza consistente de color negro, ocurrió en el período de 8

a 15 días después de inoculación, tiempo en el que se cuantificó la producción de esclerocios sobre el tejido vegetal.

Producción de esclerocios sobre tejido vegetal de *Sclerotinia minor*.

Tratamiento	Promedio de esclerocios en 144 cm ² de área foliar
1	14,34± 14,5
2	167±6

Tratamiento 1: Inoculación con 1 esclerocio.

Tratamiento 2: Inoculación con 2 esclerocios.

En el caso de *S. sclerotiorum* se observaron los síntomas de la enfermedad entre 4 a 5 días después de la inoculación, éstos se caracterizaron por presentar lesiones también de color marrón en la zona de inoculación; posteriormente se apreció la emergencia de micelio color blanco de aspecto algodonoso desde los esclerocios. Durante el período de 6 a 12 días después de la inoculación se observó el tejido foliar completamente colonizando por el hongo, mostrando el aspecto de pudrición generalizada tal como dieron referencia Bolton et al (2006).

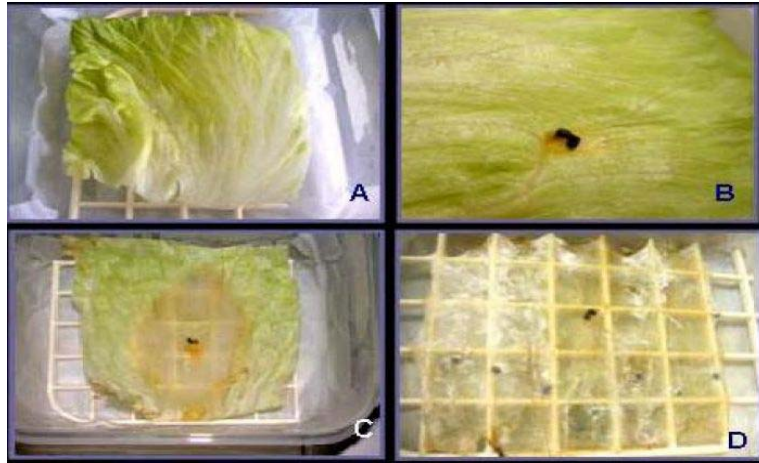
La formación de esclerocios demora ente 10 a 15 días después de la inoculación tiempo en el cual se realizó la determinación de inóculo secundario

Producción de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Tratamiento	Promedio de esclerocios en 144 cm ² de área foliar
1	7,16±2,17
2	16,17±5,17

Tratamiento 1: inoculación con 1 esclerocio.

Tratamiento 2: Inoculación con 2 esclerocios.



Fuente propia

Foto N° 13. Prueba de patogenicidad de *Sclerotinia sclerotiorum* en hojas:

A. Hoja sin síntomas. B. Halo de infección. C. Producción de micelio. D. Producción de esclerocios.

Al comprobarse que el modo de infección de las especies de *Sclerotinia ssp.* aisladas presentan diferencias en la expresión de los síntomas y signos de la enfermedad.

S. sclerotiorum logra la degradación del tejido dando un aspecto de macerado con poca producción de micelio mientras que *S. minor* logró la pudrición del tejido vegetal sin la degradación del tejido pero con la emergencia abundante de micelio blanco y algodonoso que cubre todo el tejido, el cual perdura hasta el final de las observaciones.

La producción de esclerocios fue mayor para *S. minor* comparado con lo ocurrido en el caso de *S. sclerotiorum*. Tal como se presentó en el tratamiento 2, con un promedio de 1,16 esclerocios/cm² de área foliar, mientras que en el caso de *S. sclerotiorum* ésta producción fue de 0,11 esclerocios/cm² de área foliar para el mismo tratamiento. Estos resultados concuerdan con lo reportado por la literatura científica, en la que *S. minor* se caracteriza por producir numerosos esclerocios mientras que *S. Sclerotiorum* produce pocos esclerocios, además que los esclerocios constituyen la fuente de inóculo primario de la enfermedad causada por *S. minor* mientras que en el caso de *S. sclerotiorum* el inóculo primario lo constituyen las ascosporas. Por medio de esta prueba se comprobó el postulado 3 de Koch, el cual menciona que cuando se tiene el aislamiento puro del agente causal de la enfermedad y éste al ser

inoculado en el huésped susceptible del que fue aislado, debe reproducir la enfermedad específica.

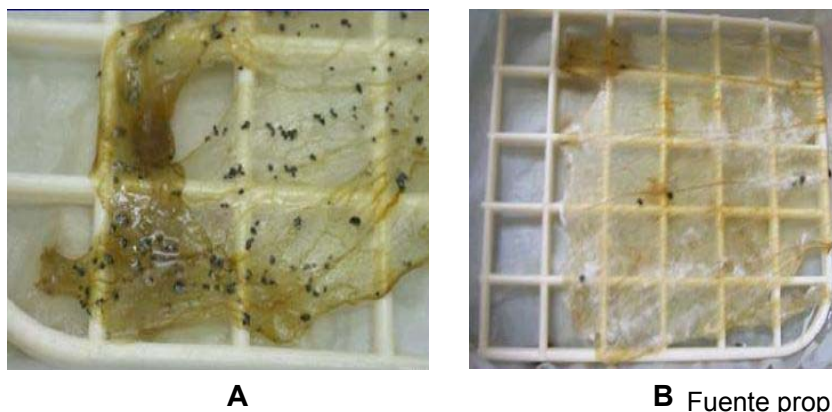


Foto N° 14. Tejido foliar infectado 15 días después de la inoculación (A) *S. minor*, (B) *S. sclerotiorum*

Las características morfológicas de los esclerocios producidos sobre el material vegetal fueron las mismas del inóculo empleado inicialmente, por lo que esta prueba permitió confirmar la identidad de las especies de *Sclerotinia ssp* de las muestras tomadas en el ensayo.

4.3. Población de esclerocios en el sustrato.

El muestreo se realizó a los 42 días después del trasplante y se encontró una densidad de inóculo de la enfermedad bastante baja, la cual se presenta en la tabla.

CUADRO N° 1 Densidad de esclerocios de *Sclerotinia minor* en las muestras tomadas a los 42 días después del trasplante.

Repetición	Maseta	Tamaño de poro de tamiz (mm)	Esclerocios recuperados
1	1	1	3
2	5	2	2
3	10	1	1
4	15	2	3
5	20	1	2

Cabe destacar que las muestras de sustrato se tomaron a los 42 días después del trasplante, tiempo en el cual se evidenció la enfermedad, a través de la

presencia de síntomas y signos en las plantas, lo cual sugiere que para este tiempo ya habría ocurrido la germinación de los esclerocios presentes en el suelo, por lo cual no fue posible detectarlos. La germinación del micelio ocasiona la fragmentación del esclerocio, tal como lo describieron Wifets y Bultock (1992), donde comprobaron que durante la germinación eruptiva de esclerocios de *Sclerotinia minor*, éstos se desintegran debido a que la emergencia del micelio rompe la corteza.

La actividad de la flora edáfica es otro de los factores que se debe considerar en la detección de esclerocios en el campo. Diferentes investigadores determinaron que el descenso de la viabilidad de los esclerocios esta estrechamente relacionada con que el aumento de la población microbiana, ya que al realizar un estudio en parcelas experimentales en donde sometieron esclerocios de *S. sclerotiorum* a profundidades de 0, 5 y 10cm, y evaluaron su porcentaje de germinación y colonización bacteriana durante 12 meses, encontrado que la viabilidad para el primer mes fue del 100% para las profundidades 0 y 5cm y del 85% para 10cm.

4.4. Seguimiento a la enfermedad

En el invernadero se registro la incidencia de la enfermedad y la proporción de plantas muertas por la enfermedad comenzó a los 42 días después del trasplante y culminó a los 72 días, encontrándose un 10,30% de plantas enfermas al inicio del muestreo y aumentó progresivamente hasta el 51% al finalizar el ciclo del cultivo, mientras que la población de plantas muertas fue del 1,16% al inicio del muestreo y aumentó hasta el 35,12% al finalizar el muestreo y el ciclo del cultivo.

Los resultados obtenidos al finalizar en seguimiento de la enfermedad demuestran la capacidad antagónica de *Trichoderma inhamatum* en contra del fitopatógeno demostrando que la aplicación del bioinsumo reduce paulatinamente la acción nociva del fitopatógeno durante el desarrollo del cultivo de lechuga.

4.5. Factores ambientales del Invernadero

La toma de datos fue a los 7,14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 días después de la infección de las masetas y aplicación del antagonista en plantas. La toma de datos de temperatura se realizó 3 veces al día, en la mañana, pasado el medio día y finalizando la tarde, registrándose temperaturas máximas y mínimas.

CUADRO N° 2. Temperaturas (°C) durante el periodo del cultivo.

Hra. \ Mes	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct
6:30-7:30	5°	3°	4°	5°	7°	8°
12:00-15:00	25°	23°	20°	22°	25°	26°
17:00-19:00	19°	16°	15°	16°	18°	19°

Se registraron las temperaturas en la carpa solar donde se observó que en las madrugadas se presentaron temperaturas entre los 6 °C a 8 °C. Las mayores temperaturas se registraron pasado el medio día entre las 13:00 a 15:30 que oscilan entre los 26 °C a 32 °C manteniéndose una temperatura constante de 24.5 °C en promedio. Al finalizar la tarde entre las 17:00 a 18:30 horas a 19 °C como promedio.

La relación que tiene la temperatura con *Trichoderma* es que la temperatura aumenta el proceso metabólico de *Trichoderma*, teniendo un rango óptimo de 20 °C.

Las condiciones de humedad dentro de la carpa solar, fueron óptimas para el desarrollo de la enfermedad con un promedio de 78.5 % en el día. Las condiciones de humedad y temperatura fueron óptimas para el desarrollo de ambos hongos.

La importancia de la humedad para el desarrollo del Moho Blanco es del 62.2 % a 88 %, para el desarrollo de las estructuras fructíferas sobre los tejidos afectados, y se adecua en un clima húmedo y moderadamente frío 8°C a 15°C., la humedad es uno de los factores determinantes para que el fitopatógeno esporule, libere y germine sus esporas, y en especial cuando se tiene restos de vegetales infectados, para que produzca la infección según lo descrito por Cozzi y Gasoni (1995).

4.6. Labores culturales

En la presente investigación se realizó un control del ambiente de la carpa solar (invernadero) cerrando las ventanas de ventilación a horas 17:30 y regando por las noches, aumentando la humedad como medio de soporte ante las heladas.

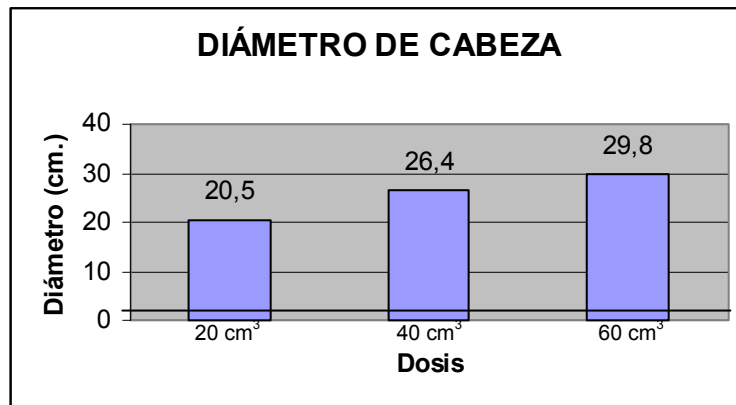
Este fue un factor importante para el desarrollo de las plantas de lechuga y su relación que tuvo con las dosis de *Trichoderma*.

4.7. Variables de respuesta

4.7.1. Diámetro de cabeza de lechuga

Se puede destacar que la aplicación de una dosis de 60cm³ incrementa el diámetro de cabeza de lechuga a en un rango de diferencia del 13.30 % en tamaño con las otras dos dosis.

Gráfico N° 1. Diámetro de cabeza de lechuga en cm.



Cuadro N° 3. ANVA para el diámetro de cabezada lechuga Ft (5%)

FV	GL	SC	CM	F	Ft
Factor A	1	381.6328	381.6328	129.3656	*
Factor B	2	126.6660	63.3330	21.4686	*
INTERACCION	2	61.0664	30.5332	10.3501	*
ERROR	24	70.0007	2.9500		
TOTAL	27	640.1660			

CV. = 7.11%

*

significativo

La prueba de estadística dio como respuesta, una diferencia significativa entre tratamientos. Dando un coeficiente de variación en las unidades

experimentales representando 7.11 %, siendo confiable la torna de datos del diámetro de cabeza de lechuga.

La información se sometió a una prueba de comparación de medias “Tukey” se puede concluir a un nivel de 5 %, que tratar con las dosis de *Trichoderma inhamatum* en 60cc., 40cc. y 20cc presentan diferencias significativas que van en rango de 29cm, 24 cm y 22 cm. siendo la dosis de 60cm³ con un promedio de 29 cm.

Trichoderma i. incrementa la absorción de nutrientes a través del mejoramiento del desarrollo radicular o promoviendo la disponibilidad de los nutrientes necesarios.

Cuadro N° 4. Comparación de medias de los tratamientos para el diámetro de cabeza.

TABLA DE MEDIAS DEL DIAMETRO DE CABEZA				
FACTOR B				
FACTOR	1	2	3	MEDIA
A				
1	20.60	30.00	24.60	27.73
2	24.40	19.00	18.40	20.60
MEDIA	26.50	24.50	21.50	24.16

COMPARASION DE MEDIAS FA		
TRATAMIENTO	MEDIA	
1	27.73	A
2	20.60	B

FA ANIDADO EN NIVEL 1 DE FB		
TRATAMIENTO	MEDIA	
1	28.60	A
2	24.40	B

FA ANIDADO EN NIVEL 2 DE FB		
TRATAMIENTO	MEDIA	
1	30.00	A
2	19.00	B

COMPARASION DE MEDIAS FB		
TRATAMIENTO	MEDIA	
1	26.5	A
2	24.5	B
3	21.5	C

FB ANIDADO EN NIVEL 1 DE FA		
TRATAMIENTO	MEDIA	
1	26.5	A
2	24.5	B
3	21.5	C

FB ANIDADO EN NIVEL 2 DE FA		
TRATAMIENTO	MEDIA	
1	24.40	A
2	19.00	B
3	18.40	C

FA ANIDADO EN NIVEL 3 DE FB		
TRATAMIENTO	MEDIA	
1	24.60	A
2	18.40	B

4.7.2. Número de hojas

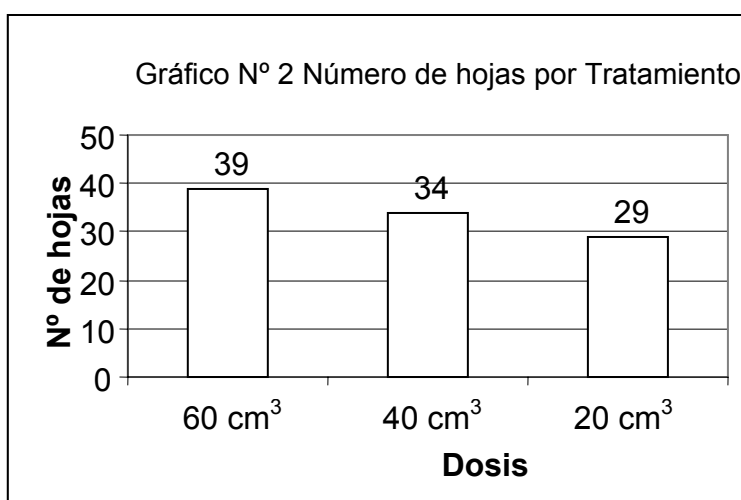
Para el promedio de cantidad de hojas por planta se puede destacar que *Trichoderma i.* en la dosis de 60cm³ las plantas tratadas obtuvieron una media de 27 hojas, disminuyendo progresivamente en la reducción de la dosis a 40cm³ con una media de 23 hojas por planta y para 20cm³ con una media de 18 hojas por planta.

El incremento en el número de hojas confirma que las enzimas producidas por *Trichoderma* tienen un efecto aumentando la producción de citosina guanina que son reguladores de crecimiento en un 25 %, desarrollando la biomasa producida y fisiológicamente son altos productores de Polisacaridos y Proteasas para ser usadas en la degradación de las paredes del patógeno confirmando lo descrito por Arias (2006)

Cuadro N° 5. ANVA para el número de hojas

FV	GL	SC	CM	F	Ft
Factor A	1	145.2011	145.2011	32.380	*
Factor B	2	76.0664	38.0338	8.4833	*
INTERACCION	2	8.5996	4.2998	0.9591	*
ERROR	24	107.5996	4.4833		
TOTAL	27	337.4667			

CV. = 8.6 %



Trichoderma suprime la absorción de iones orgánicos pero incrementa la absorción de la glucosa por las raíces; incrementando la absorción de nutrientes a través del mejoramiento del desarrollo radicular o promoviendo la disponibilidad de los nutrientes necesarios.

En el análisis de comparación de medias entre los tratamientos se puede comprobar una diferencia significativa de la dosis 60cm³ con los otros dos tratamientos debido a un mayor número de hojas.

Entre las dosis de 40cm³ y la dosis de 20cm³, hay una similitud en el número de hojas y esta diferencia es poco perceptible en campo.

FACTOR A	FACTOR B			MEDIA
	1	2	3	
1	30.0	28.6	27.4	27.73
2	26.8	24.4	18.4	24.46
MEDIA	28.4	26.5	21.5	26.46

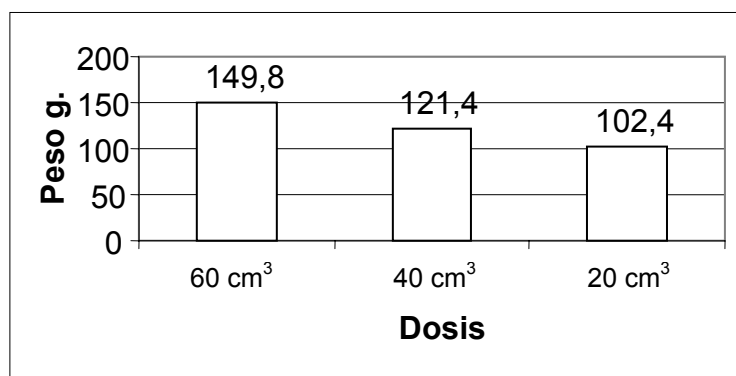
Se puede manifestar que media de la dosis 60cm³ fue mayor en promedio de 5 hojas, el uso de una dosis de 40cm³ con 20 hojas por planta y una media de 4 hojas, para 20cm³ se tuvo una media de 18 hojas con un desvío de 3 hojas. *Trichoderma i.* es un hongo que se puede encontrar tanto fuera como dentro de la rizósfera, es en la rizósfera donde puede colonizar y proteger las raíces de las plantas Pero ésta no es la única ventaja que las plantas superiores reciben de *Trichoderma i.* El aumento del crecimiento del sistema radicular estudiadas en diferentes especies de plantas superiores ha manifestado que tiene un efecto de mejorar la estructura foliar, el tamaño de planta, y por consecuencia al número de hojas, factores que se deben a la actividad que tiene *Trichoderma i.* sobre los reguladores de crecimiento metabolizando de mejor manera el

Nitrógeno que es responsable de la producción de aminoácidos y proteína dentro del proceso fotosintético que se produce en la planta.

4.7.3. Peso de cabeza

Para el peso de cabeza de lechuga se pudo observar un claro aumento en la dosis 60cm³ con un peso neto de 150 g como promedio general seguido por la dosis de 40cm³ con 105 g en peso y por último la dosis 20cm³ con un peso neto de 85 g. El uso de *Trichoderma i.* ayuda a tolerar al estrés de parte de la planta al ayudar al desarrollo del sistema radicular demostrando una solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos.

Gráfico N° 3. Peso de planta por Tratamiento



Cuadro N° 7. ANVA para el peso de la cabeza de lechuga

FV	GL	SC	CM	F	Ft
Factor A	1	30784.06.25	30784.0625	201.0507	*
Factor B	2	10760.2812	5380.1406	35.1377	*
INTERACCION	2	1364.2500	682.1250	4.4550	*
ERROR	24	3674.7812	153.1158		
TOTAL	27	46583.3750			

CV. = 12.06 %

En la prueba de estadística dentro del proceso de ANVA, utilizando la prueba f(5%) se distinguió una diferencia significativa entre tratamientos, con un coeficiente de variación del 12.06 %.

En la prueba de comparación de medias Tukey es posible inferir al 5 %, que tratar las plantas a dosis de *Trichoderma* en 60cm³ tienen diferencias significativas que van desde un rango de 150 g a 105 g siendo altamente diferencial con respecto a la dosis de 20cm³, que presenta un peso menor que la dosis de 60cm³.

Dentro del análisis de comparación de medias entre los tratamientos se puede comprobar una diferencia significativa manifestando una diferencia en la homogeneidad del peso de cabezas utilizando *Trichoderma i.*, siendo nuevamente alta la diferencia con respecto a la media utilizando dosis de 60cm³ con 150 g, disminuyendo en 120 g para la dosis de 40cm³ y 105 g para la dosis de 20cm³, en promedio, fenómeno que se exhibió en la naturaleza de las cabezas de lechuga siendo de hojas más turgentes para la dosis 60cm³. El desarrollo de las plantas se ve favorecido por la colonización rápida por estos microorganismos, fenómeno que se comprobó debido a una alta densidad de la zona radicular justificado en el peso de las cabezas.

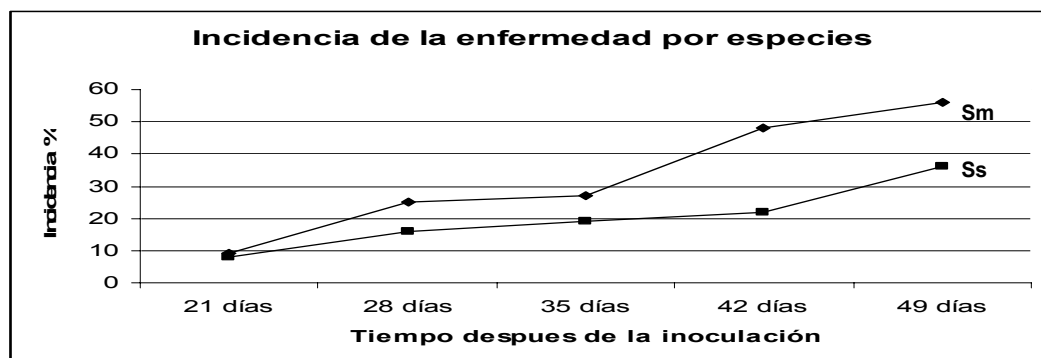
Cuadro N° 8. Comparación de medias de los tratamientos para los pesos de cabeza de lechuga.

MEDIAS DEL PESO DE CABEZA				
FACTOR A	FACTOR B			MEDIA
	1	2	3	
1	155.6	140.6	107.6	134.6
2	99.0	57.6	55.0	70.53
MEDIA	127.3	99.1	81.3	102.56

4.7.4. Porcentaje de Incidencia del moho blanco

Dentro del porcentaje de incidencia, se observó que *S. minor* fue la especie que predominó a partir de los 21 días con un 12% de incidencia y sucesivamente incrementándose (28 días 25%, 35 días, 27%, 42 días 48% y 49 días 58%).

GRAFICO N° 4 Porcentaje de incidencia de la enfermedad
Sclerotinia minor (Sm), *Sclerotinia sclerotiorum* (Ss)



En el análisis de la incidencia se tuvieron valores constantes durante los 28 a 35 días en las dosis 40cm^3 y 60cm^3 , el tratamiento con la dosis de 20cm^3 fue el que obtuvo los mayores valores de incidencia de la enfermedad.

A partir de los 30 días hasta los 50 días de inoculada la enfermedad, se tiene un decremento en lo que se refiere al promedio o "media general", donde la dosis de 20cm^3 de un 18% disminuye al 13 %, la dosis de 40cm^3 se obtuvo un 9 %.de incidencia descendiendo a un 6 %, y la dosis de 60cm^3 de un 7 % se redujo a un 2%.

Observando el comportamiento de incidencia de la enfermedad se pudo comprobar una diferencia significativa entre las dosis de 20cm^3 , 40cm^3 , 60cm^3 , y la cantidad de esporas suministradas al cultivo tienen una directa relación con la cantidad de metabolitos inhibitorios, demostrando que el biocontrol de *Trichoderma i.* es de actividad lenta la velocidad de acción todavía está en estudio a diferencia de los tratamientos de las enfermedades con el control ejercido con productos químicos que son de una actividad rápida y la velocidad de acción está bien establecida, demostrando una línea constante de observación muy bien definida.

Pineda y Tortolero (1996) sugirieron que la promoción del desarrollo se debe a que *Trichoderma* tiene la capacidad de solubilizar el manganeso y el fósforo que son elementos importantes en la fotosíntesis de las plantas, para la producción de materia orgánica.

4.7.5 Dosis y frecuencia de aplicación

Los datos obtenidos del ensayo, demuestran que el tratamiento con dosis de 60cm³ a intervalos de 7 días de aplicación se diferencia entre los tratamientos con mayor eficiencia del control de la enfermedad disminuyendo la actividad nociva del fitopatógeno paulatinamente en el tiempo.

Para el sondeo de la capacidad de control que ejerce el antagonista con las dosis

de aplicación del se obtuvo la siguiente relación:

- 20cm³, 64% de incidencia del fitopatógeno
- 40cm³, 47% de incidencia del fitopatógeno
- 60cm³, 16% de incidencia del fitopatógeno

GRAFICO Nº 3 EFICIENCIA DEL BIOINSUMO

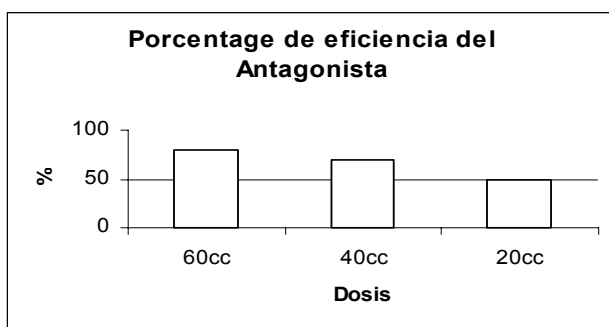
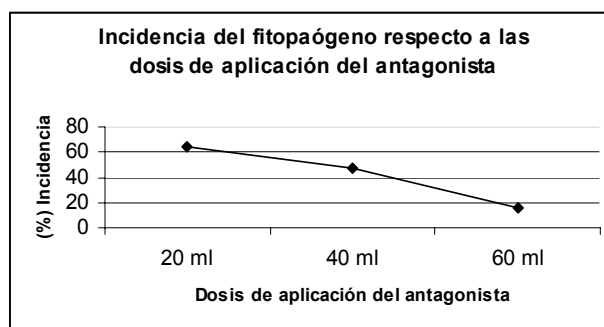
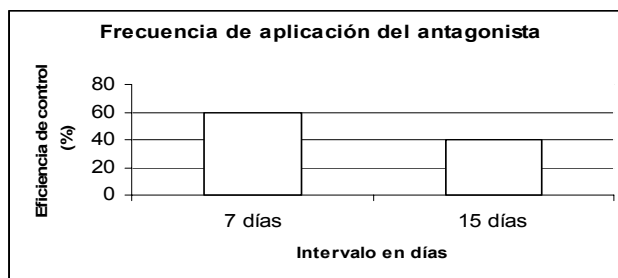


GRAFICO Nº 4 INCIDENCIA DEL FITOPATÓGENO



La dosis de 60cm³ aplicado en frecuencia de 7 días presento el mejor resultado en la acción antagónica de *Trichoderma spp* frente a *Sclerotinia spp*

GRAFICO Nº 5 EFICIENCIA DE LAS FRECUENCIAS DE APLICACIÓN



V. Análisis económico

Se utilizó la metodología de análisis de costos del CIMMYT (1988), el cual se basó en los costos variables para cada tratamiento obteniendo un presupuesto parcial, tasa de retorno marginal y la relación beneficio/costo de cada tratamiento.

Presupuesto parcial

Los únicos costos que varían entre tratamientos fueron los costos del bioinsumo aplicado cuyo precio fue de 12 Bs. el embace de 180 cm³ y la mano de obra invertida en la aplicación 10 Bs./Hr. y para los cálculos se tomó en cuenta el precio de venta en el mercado de Bs. 5.00 por bolsa de 700 gr. de lechuga en puestos de venta.

El menor costo se obtuvo en el (T3) al cual se aplicó 20 cm³ y tuvo el menor rendimiento y beneficio neto. Los tratamientos (T1-60cm³), (T2-40cm³), tuvieron los mismos costos pero el T1-60cm³ obtuvo el mayor beneficio neto entre ellos.

Tasa de retorno marginal

(TRM)

Según el CIMMYT (1988), esta tasa indica que por cada 1 Bs. invertido en dicha aplicación se puede esperar recobrar el 1 Bs. y obtener 0.55 Bs. adicionales, en comparación con el (T3-20 cm³).

Relación

costo/beneficio

Para este análisis se tomaron en cuenta los costos comunes y variables para todos los tratamientos. Con base a la utilidad (Ingreso bruto – Costos totales) se calculó la relación beneficio neto (Utilidad/Costos totales) obteniéndose la mayor relación (0.55) para el tratamiento (T1-60 cm³), es decir que por cada Boliviano invertido el 55% de los costos se convierten en utilidad, por lo que este dato indica que el T1 resulta ser el más rentable comparado con T2 y T3.

VI. Conclusiones

Evaluado el control que ejerce *Trichoderma inhamatum* sobre el fitopatógeno *Sclerotinia sp* en el cultivo de lechuga en condiciones de invernadero, se llega a las siguientes conclusiones:

- *Trichoderma* es un hongo venéfico que se puede colonizar y proteger las raíces de las plantas, ésta no es la única ventaja que la planta recibe de *Trichoderma*. Está además el incremento en peso de las plantas que se desarrollan en presencia de este hongo.
- El mejor efecto de biocontrol del fitopatógeno se observó con la aplicación del antagonista a dosis de 60cm³/10lt de agua con mayor frecuencia a intervalos de aplicación de 7 días.
- El control biológico es una práctica clave en toda estrategia innovadora para la defensa de los cultivos dentro del respeto del medioambiente. Se considera que en la actualidad el Control Biológico de las enfermedades de plantas ha tomado una trascendental importancia. Esto es debido a que las problemáticas del control químico afectan sobre la salud de los productores y consumidores de alimentos; contaminación de los recursos naturales como agua, suelo y aire; generación de poblaciones de patógenos resistentes a los principios activos utilizados y falta de un control eficiente.

7. Recomendaciones

- Para el control y manejo del fitopatógeno *Sclerotinia sp.* conviene realizar varias aplicaciones de *Trichoderma i.* si se desea propagar este hongo antagonista en cultivos de invernaderos o en ensayos al aire libre, porque el hongo puede perder su capacidad de antagonismo a causa de los diferentes fenómenos medioambientales existentes en las diferentes zonas agrícolas, y a la vez; el antagonista tarda un tiempo para ambientarse y activarse como tal, con esto *Trichoderma inhamatum*. (Hongo antagonista de fitopatógenos) y la planta hospedera actúan simbióticamente y generan un mecanismo de

defensa evitando se manifiesten los síntomas enfermedad inducidas por acción del fitopatógeno.

- Las aplicaciones de *Trichoderma* deben ser realizadas con mayor frecuencia, en lo posible realizada en horas de la tarde y la remoción de plantas infestadas completas para lograr la reducción de la enfermedad en un porcentaje aceptable.

- Las aplicaciones se deben realizar cuando las plantas de lechuga son jóvenes en lo posible una semana después del trasplante, tomar en cuenta la humedad ambiental, la hora de aplicación.

- Sería conveniente realizar trabajos con otras especies de *Trichoderma ssp.* para observar la especificidad antagónica con fitopatógenos.

- Se recomienda para implementar un control de las enfermedades causadas por los fitopatógenos, el uso de *Trichoderma ssp.* debe ir acompañado con prácticas culturales adicionales como: uso de semilla certificada, control de la temperatura, humedad mediante una ventilación adecuada, evitando una siembra densa y previniendo el exceso de enmiendas de fertilizantes o abonado del suelo.

- Es aconsejable tomar en cuenta la frecuencia de uso del producto, recomendando a los productores su utilización durante varias gestiones agrícolas para colonizar y recolonizar el suelo con el biocontrolador.

- Los ensayos con bioinsumos se deben realizar durante en varios ciclos de cultivo y con el objeto de sondear:

- La presencia en nº de propágulos /cm² en el suelo.
- Tiempo de subsistencia y eficiencia de las formulaciones de bioinsumos en las diferentes épocas.
- El ciclo de vida del biocontrolador en cultivos de lechugas y otras hortalizas.

- Continuar con ensayos experimentales usando diferentes formulaciones de bioinsumos y/o biocontroladores para combatir fitopatógenos.

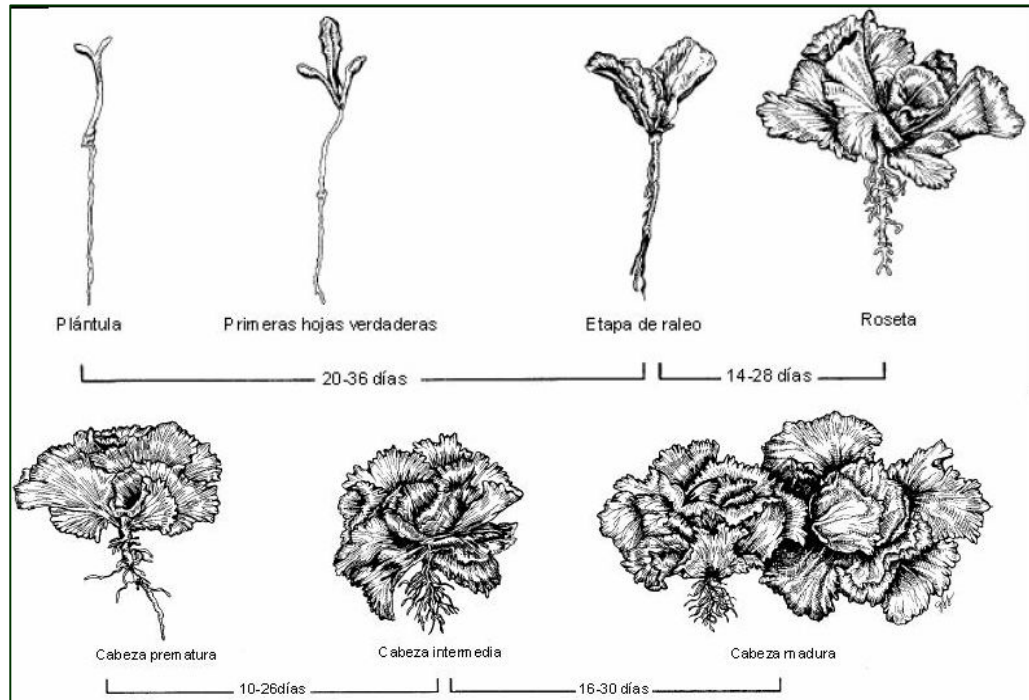
8. ANEXOS.

Anexo N° 1. TRANSPLANTE DE ALMACIGUERA A MACETAS

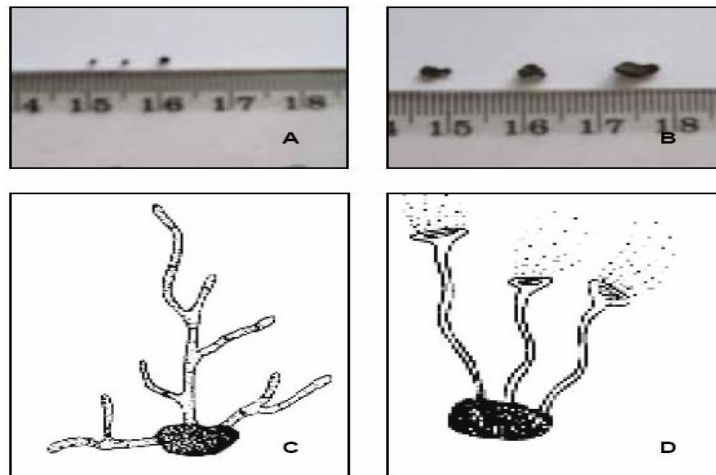


ANEXO 2. INOCULACIÓN DE ESCROCIOS EN MACETAS

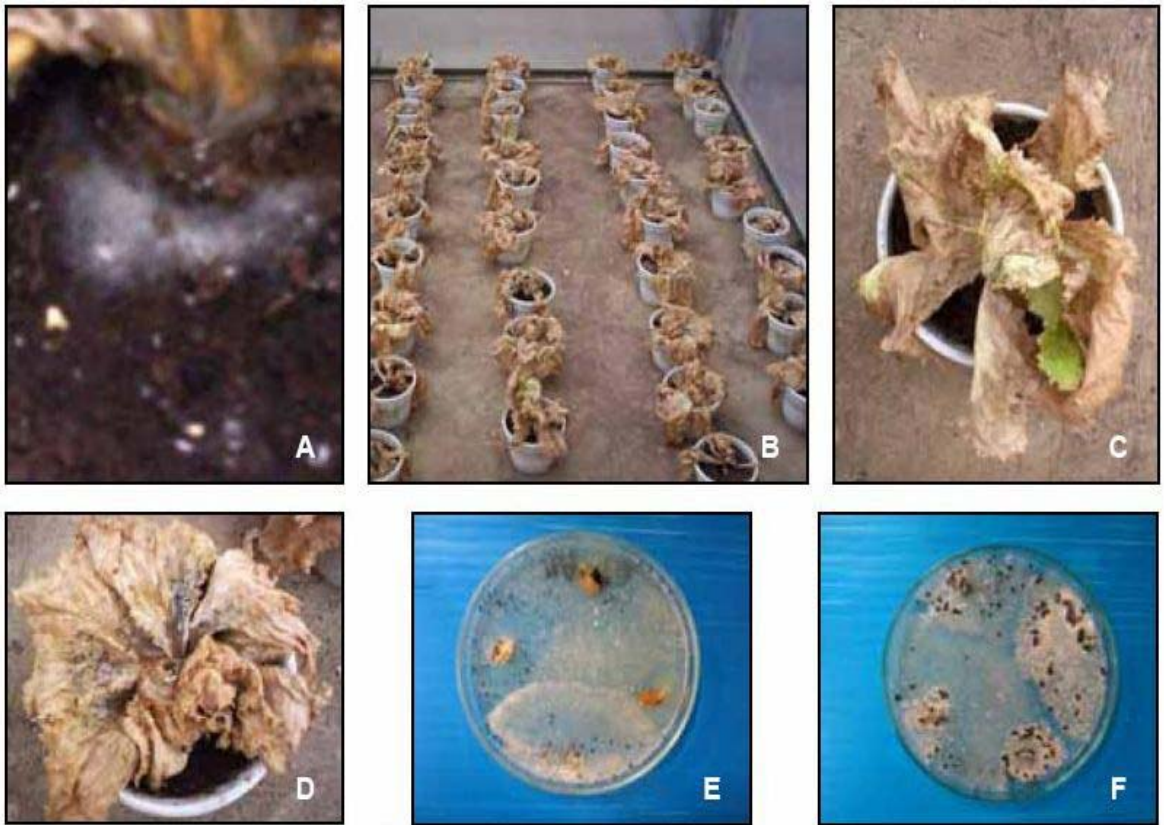




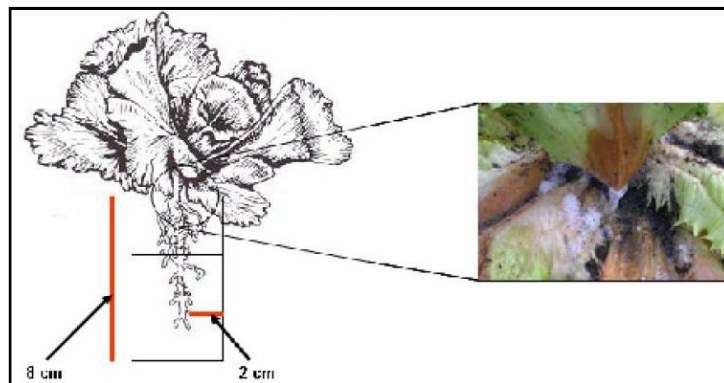
Anexo N° 3. Etapas de aparición de los síntomas durante el ciclo de lechuga, (American Phytopathological Society)



Anexo N° 4. Esclerocios y germinación de *Sclerotinia* ssp.
 A y C: esclerocio y germinación miceliogénica de *S. minor*; ;
 B y D: esclerocio y germinación carpogénica de *S. sclerotiorum* C v D Subbarao (1998)



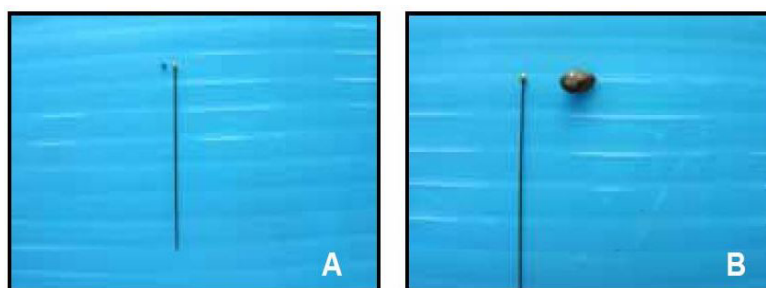
Anexo N° 5. Pruebas de patogenicidad,
 A y B: Síntomas característicos del moho blanco,
 C y D: Colonización y pudrición basal,
 E y F: Aislamiento de esclerocios (*S. minor* y *S. sclerotiorum*)



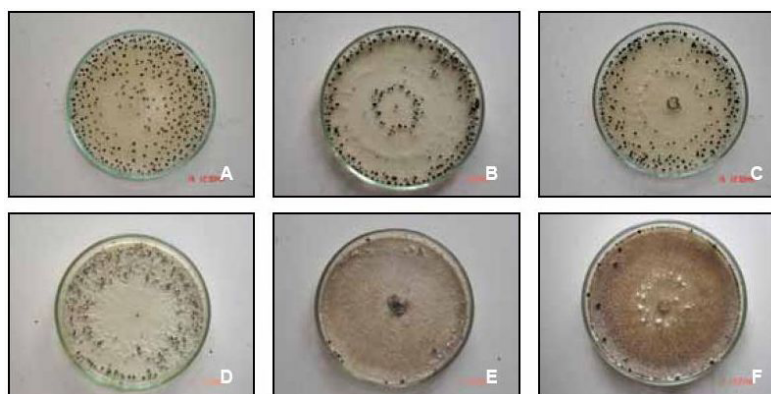
Anexo N° 6 Zona de inoculación de *Sclerotinia* sp



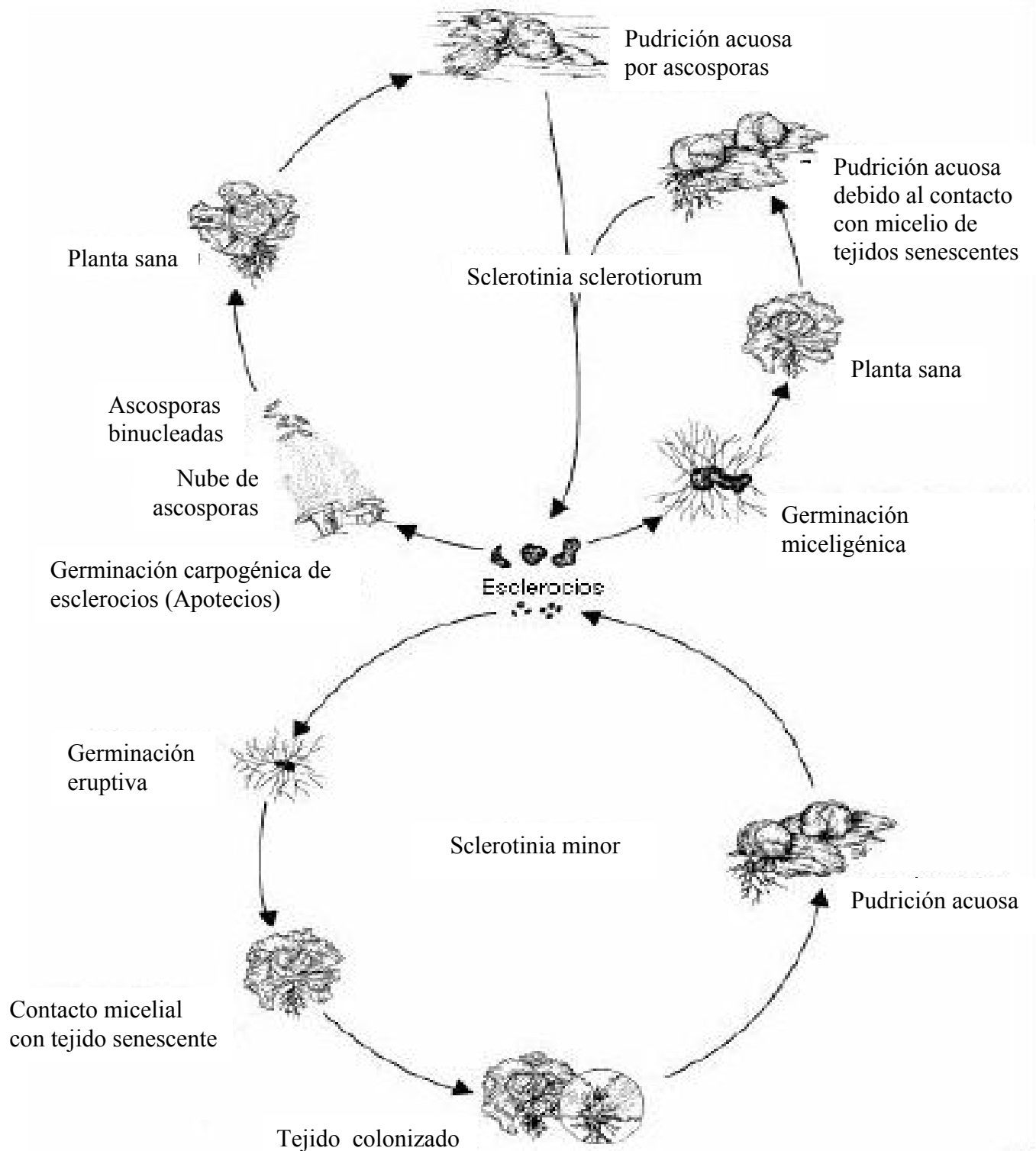
Anexo Nº 10 Distribución de plantas infestadas en la prueba de patogenicidad en cámara húmeda



Anexo Nº 7. Esclerocios, A: *Sclerotinia minor* ; B: *Sclerotinia sclerotiorum*



Anexo Nº 8. Colonias de *S. minor* y *S. sclerotiorum*,
 Crecimiento de *S. minor*, A: formación aleatorizada de esclerocios; B, C y D: formación de esclerocios en forma de círculos concéntricos, con agregación de algunos esclerocios; y
 Crecimiento de *S. sclerotiorum*, E: formación de esclerocios AISIA los extremos de la colonia y F: formación de esclerocios en halos concéntricos



Anexo Nº 9 Ciclo de vida de *Sclerotinia ssp.* Modificado de Subbarao (1998)

Anexo Nº 11. Fases de crecimiento de la lechuga

Fase	Observaciones
Germinación	La radícula emerge de la semilla
Cotiledón	Los cotiledones emergen y se expanden
Aumento de las hojas verdaderas	Las hojas emergen y se expanden
Roseta	Hojas con estructura aplanada a erguida (todavía no curvada)
Formación del Cogollo	Comienza cuando emerge una hoja curvada y se expande. Hojas sucesivas más curvadas hasta que son completamente envueltas por las hojas exteriores
Madurez	Se han desarrollado un gran número de hojas en el interior de modo que se forma un cogollo esférico cada vez más firme. Requiere de 60-120 días dependiendo de la estación
Sobre madurez	Las hojas del cogollo continúan expandiéndose hasta que se forman grietas por la presión
Formación del tallo floral	El punto de crecimiento se alarga y emerge a través de la parte superior del cogollo
Floración	Se inicia con la formación de la yema terminal y la apertura de la flor. Continúan formándose nuevas flores diariamente durante 50-70 días
Producción de Semillas	Empieza con la flor Terminal, el involucro se seca y se abre en unos 12-14 días

Traducido de Davis et al (2002)

Anexo N° 12. Enfermedades del cultivo de la lechuga causada por hongos.

Enfermedad	Organismo causal	Síntomas
Antracnosis	<i>Microdochium panallonianum</i>	Pequeñas manchas marrones y acuosas en el follaje exterior. Pobre desarrollo del cogollo.
Pudrición de las plántulas	<i>Rhizoctonia solani</i>	La planta puede ser destruida antes de la germinación. Cuando las plántulas se hacen mayores destruyen la capa adyacente del tallo.
Mildeo Velloso	<i>Bremia lactucae</i>	Lesiones de color verde pálido o ligeramente cloróticas en las hojas, volviéndose amarillas o necróticas.
Moho blanco de la lechuga	<i>Sclerotinia minor</i> <i>S. sclerotiorum</i>	Marchitamiento en la capa exterior de las hojas pudrición blanda acuosa. Formación de esclerocios.
Fusariosis	<i>Fusarium oxysporum</i>	Las plantas presentan una raya de color pardo rojizo que se extiende desde la raíz principal hasta el cortex de la corona
Moho gris	<i>Botrytis cinerea</i>	Pudrición blanda, acuosa y de color gris parduzco en las hojas y tallo dañados o senescentes
Mancha foliar por <i>Septoria</i>	<i>Splona lactucae</i>	Pequeñas manchas irregulares y cloróticas, que están algo delimitadas por los nervios. Necrosis extensivas.
Marchitez southernm	<i>Sclerofium rolfsii</i>	Áreas acuosas alrededor del tallo, cierre de la copa y pudrición de los pecíolos. Toda la planta colapsa. Desarrollo de sclémcios.
Mancha foliar por <i>Stemphyllium</i>	<i>Sfemphyllium botryosum</i>	Aparecen como pequeñas manchas redondas, pardas, hundidas en el centro debido a la necrosis del tejido.
Verticiliosis	<i>Verticillum daticae</i>	Formación de estrías verticales de color verde o negro en la corona y raíz principal. Decoloración verde pardusca del tejido vascular. Forma microsclerocios en las nervaduras.

Tomado de Plagas y enfermedades de la lechuga, Davis et al (2002)

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arias, A. 2006. Evaluación de tres métodos de control para el manejo de *Sclerotinia sclerotiorum*. Tesis de Pregrado. Carrera de Ingeniería Agronómica Facultad de Agronomía. Universidad Nacional. Venezuela Pág. 3-7. (PDF)
2. Altomare, C., Börkman, T., Norvell, W. and Harman, G. "Solubilidad del dióxido de manganeso por el hongo *Trichoderma harzianum* 1295-22". <http://www.nysaes.cornell.edu/hort/faculty/bjorkman/other/abstracts/IUM_S96.html>. Nov. 2006
3. Arcia, A. M. 1995. Uso de Antagonistas en el Control de Fitopatógenos del Suelo In Curso sobre Control Microbial de Insectos Plagas y Enfermedades en Cultivos. Trabajo Mimografiado, presentado en seminario en la Universidad Centro Occidental (UCLA). Barquisimeto - Venezuela. 20 p. (PDF)
4. Bardin, S.D. y Huang, I.C. 2001. Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada. *Can. J. Plant Pathol.* 23: 88—98.
5. Boland, G.J., and Hall, R. 1994. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Plant Pathol.* 16: 93—108.
6. Bolton, M. D., B. Thomma, y B. O. Nelson. 2006. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Mol. Plant Pathol.* 7:1
7. Baker, R. and Cook, R. 1974. *Biological control of plant pathogens*. San Francisco USA, W. H. Freeman, 433 p. (PDF)
8. Bautista, L. y Acevedo, R. 1993. Caracterización e identificación de dieciséis aislamientos de *Trichoderma* spp. (Resumen). *Fitopatol. Venezol.* 6(2):54. (PDF)
9. CIMMYT 1988. La formulación de recomendaciones a partir de datos agronomicos; Un manual metodologico de evaluacion economica. Edicion completamente revisada. Mexico D.F. 79 p.
10. Cozzi, J. y Gasoni L. 1995. Producción de Biomasa de *Trichoderma harzianum* en distintos medios y condiciones de cultivo. (Resumen). *Revista Forestal Venezolana* 1(1):27 (PDF)

11. Chávez, G. y Medina, L. 2003. Diseño de un clonador eléctrico para la producción de agua electrolizada oxidadora y su utilización en la destrucción de microorganismos presentes en Lechuga (*Lactuca sativa*). Tesis de Pregrado. Carrera de Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias.. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá DC., Colombia. Pág. 6-1
12. Chérif, M. and Benhamou, N. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f sp. *radiscis - lycopersici*. *Phytopathology* 80(12): 1406-1414. (PDF)
13. Davis, M., Subbarao, K., Raid, R. y Kurtz, E. 2002. Plagas y enfermedades de la lechuga. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. Pág 1-11, 14-24
14. Danielson, R. and Davey, C. 1973. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. *Soil Biology & Biochemistry* 5(5): 485-494. (PDF)
15. Elad, I., Chet, I. and Katan, J. 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70(2): 119-121. (PDF)
16. Godoy, G., Steadman, J. R., Dickman, M. B., and Dam, R. 1990. Use of mutants to demonstrate in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiform* on *Phaseolus vulgaris*.
17. Hao, J. J., Subbarao, K. V., Hubbard, J. C., y Koike, S. T. 2003. Effects of broccoli rotation on lettuce drop caused by *Sclerotinia minor* and on the sclerotial population in soil.
18. Larenas, C. y Montealegre, J. 1995. Efecto de la temperatura de almacenaje y del contenido de nutrientes sobre la viabilidad de pellets de *Trichoderma harzianum*. *Fitopatología* 31(1):66-69. (PDF)
19. Lifshits, R. Windhan, M. and Baker, R. 1986. Mechanism of biological control of preemergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76(7):720-725. (PDF)
20. Lo, C.; Nelson, E. y Harman, G. E. 1996. Biological control of turfgrass diseases with a rhizosphere competent strain of *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease* 80(7):736-741. (PDF)
21. Lo, C., Nelson, E., Hayes, C. and Harman, G. 1998. Ecological studies of transformed *Trichoderma harzianum* strain 1295-22 in the rhizosphere and on the phylloplane of creeping bentgrass. *Phytopathology* 88(2):129-136 (PDF)

22. Malcolm D., Hampton J., Phipps P. y Grabau E. 2005. Enhancing Resistance to *Sclerotinia minor* and Peanut by Expressing a Bailey Oxalate Oxidase Gene Plant.
23. Matheron, M.E., y Porchas, M. 2004. Acitivity of boscalid, fenhexamid, fluazinam, fludioxonil, and vinclozolin on growth of *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum* and development of lettuce drop. *Plant Dis.* 88:665-668.
24. Melzer, M. S., y Boland, G. J. 1994. Epidemiology of lettuce drop caused by *Sclerotinia minor*. *Can. J. Plant Pathol.* 16:170-176.
25. Nicholas, D. 1965. Influence of the rhizosphere on the mineral nutrition of the plant. *In Ecology of Soil - Borne Plant Pathogens.* R. W. Baker and W. C. Snyder Eds. University of California press, Berkeley, Los Angeles. 571 pp. (PDF)
26. Osorio, J. y Lobo, M. 1983. Hortalizas. Manual de asistencia técnica No 28. Instituto Colombiano Agropecuario. ICA.
27. Pineda, J. y Tortolero, O. 1995. Estrategias para el uso de *Trichoderma* en el control de hongos fitopatógenos en el suelo. (Resumen). *Revista Forestal Venezolana* 1:47. (PDF)
28. Porter, D. M., y Phipps, P. M.. 1985. Effects of three fungicides on mycelial growth, sclerotial production, and development of fungicide-tolerant isolates of *Sclerotinia minor*.
29. Riou, C., Freyssinet, G. And Févre, M. 1991. Production of cell wall-degrading enzymes by phytophathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. *Appl. Environ. Microbiol*
30. Sánchez G y Moreno M. 2004. Manejo integrado de plagas de crucíferas y lechuga en la Sabana de Bogotá. Editorial. Corpoica, Bogotá D. C.
31. Subbarao, K.V., Hubbard, J. C., Hao, J. J, y Schulbach, K. F. 1995. Effects of irrigation and tillage spatial dynamics of *Sclerotinia minor* sclerot and lettuce drop incidence.
32. Smith, A. 2007. Caracterización, análisis especial y manejo integrado del moho blanco de la lechuga *Sclerotinia minor* Jarper y *S. Sclerotiorum* (Lib) Tesis Pregrado. Bogotá D.C., Colombia. Pag 56-60 (PDF)

33. Thrane, C.; Lübeck, M.; Degefu, Y.; Allerup S.; Trane, U. and Funck-Jensen, D. 1995. A tool for monitoring *Trichoderma harzianum*: I Transformation with the GUS Gene by Protoplast technology. *Phytopathology* 85(11):1428-1435. (PDF)

34. Velázquez, J. y Pineda, J. 1995 Evaluación en campo de 5 aislamientos de *Trichoderma harzianum*, para el control de *Sclerotium rolfsii*. (Resumen). *Revista Forestal Venezolana* 1(1):32. (PDF)

35. Wifets H.J. Butlock S. 1992. Developmental biology of sclerotia. *Mycological Research*. 96:801-816.

36. Wu, B. M., y Subbarao, K. V. 2003. Effects of irrigation and tillage on temporal and spatial dynamics of *Sclerotinia minor* sclerotia and lettuce drop incidence.