

## Efecto del abono verde y *Trichoderma harzianum* sobre la población de esclerocios y la incidencia *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí

Effect of green manure and *Trichoderma harzianum* on sclerotia population and incidence of *Macrophomina phaseolina* on sesame

R. Cardona

INIA-Portuguesa, Km. 5 carretera Araure-Barquisimeto. Apdo. 102, Araure, estado Portuguesa, Venezuela 3301-A.

### Resumen

Para investigar el efecto del abono verde de (*Crotalaria juncea* L.) y el hongo *Trichoderma* sobre el número de esclerocios/g de suelo (EG) de *Macrophomina phaseolina* y la incidencia de pudrición carbonosa en ajonjolí, se seleccionó una parcela de ca 800 m<sup>2</sup> (40 m x 20 m) en suelo naturalmente infestado en el Campo Experimental Turén, adscrito al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (NIA) Portuguesa, donde se establecieron tres ensayos, con una duración de dos años cada uno, evaluándose los siguientes tratamientos: a) abono verde (AV) y testigo absoluto (TA); b) AV y abono verde + *Trichoderma* (AVT) y c) AV, AVT y TA. En los dos primeros ensayos, se estimó la densidad EG, mientras que en el último se evaluó la incidencia de la pudrición carbonosa en ajonjolí. Los resultados indican que el AV retarda el desarrollo de *M. phaseolina* al inicio, pero al avanzar el ciclo del cultivo los niveles de inóculo alcanza valores iguales al TA; mientras que el tratamiento AVT mostró disminución en el EG durante todo el ciclo en comparación con el tratamiento AV. En el tercer ensayo, fueron observadas diferencias altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ) en la incidencia de pudrición carbonosa con el tratamiento AVT al compararlo con los otros tratamientos. Cabe destacar que el tratamiento AVT, constituye una alternativa viable para de control de *M. phaseolina* en ajonjolí.

**Palabras clave:** *Crotalaria juncea*, abono verde, esclerocios, control biológico, *Sesamun indicum*.

## Abstract

In order to investigate the effect of the green manure of *Crotalaria* and *Trichoderma* fungus on the number of sclerotia/ g of soil (SG) of *Macrophomina phaseolina* and the incidence of charcoal rot in sesame, a plot of 800 m<sup>2</sup> (40 m x 20 m) *ca* was selected in soil naturally infested in the experimental field "Turén" attach to the Research National Institute of Agricultural (INIA) Portuguesa, three trials were settle down, each one with a duration of two years, evaluating these treatments: a) green manure (GM) and absolute control (AC); b) GM, green manure + *Trichoderma* (GMT) and c) GM, GMT and AC. In both first trials, density of SG was evaluated, whereas in the last one, the incidence of charcoal rot in sesame was evaluated. The results indicates that the GM slows down the *M. phaseolina* development at the beginning, but when advancing the crop cycle the levels of inoculums reaches equal values to the AC; whereas the GMT treatment showed diminution in the SG throughout the cycle in comparison with the treatment GM. In the third essay, a high significant difference ( $P \leq 0.01$ ) in the incidence of charcoal rot with the GMT treatment constitutes a viable alternative for controlling *M. phaseolina* in sesame.

**Key words:** *Crotalaria juncea*, green manure, sclerotia, biological control, *Sesamun indicum*.

## Introducción

En el estado Portuguesa, las siembras efectuadas durante el ciclo norte-verano (diciembre - abril), período caracterizado por escasas o pocas precipitaciones, son afectadas por la enfermedad pudrición carbonosa, causada por el hongo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Este hongo es señalado como un problema fitopatológico en más de trescientas especies de plantas cultivadas (Cardona, 2006).

Las siembras comúnmente establecidas durante el ciclo norte-verano son ajonjolí (*Sesamun indicum* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), soya (*Glycine max* L.) y girasol (*Helianthus annus* L.); siendo la magnitud de los daños causados por la pudrición

## Introduction

In Portuguesa state, sowings made during the north-summer cycle (December - April), a period characterized by scarce or little rainfalls, are affected by the charcoal rot disease, caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid fungus. This fungus is pointed out like a healthy trouble in more than three hundred species of cultivated plants (Cardona, 2006).

Sowings commonly established during the north-summer cycle are sesame (*Sesamun indicum* L.), sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench), bean (*Phaseolus vulgaris* L.), soybean (*Glycine max* L.) and girasol (*Helianthus annus* L.); by being variable the magnitude of damages caused by the charcoal rot in the

carbonosa variables en los diferentes cultivos, señalándose que las pérdidas en las siembras de ajonjolí se encuentran por encima del 10%, particularmente en aquellos suelos que sobrepasan los 200 esclerocios/ g de suelo (Cardona, 2006).

Los síntomas de la enfermedad comienzan con lesiones oscuras en el cuello de la planta, si las condiciones ambientales son favorables, las lesiones pueden cubrir por completo al tallo y llegar a destruir los haces conductores causando la muerte de la planta (Ávila *et al.*, 1999).

En la búsqueda de alternativas de control de *M. phaseolina*, se han estudiado numerosos procedimientos que conduzcan a minimizar las pérdidas, entre los cuales se han utilizado fungicidas, herbicidas (Cardona y Rodríguez, 2002), abonos verdes (Dinakaran y Dharmalingam 1996; Germani y Plenchette, 2004) y con particular interés el hongo *Trichoderma harzianum* Rifaii, pero este biocontrolador ha proporcionado resultados poco alentadores (Cardona y Rodríguez, 2002), a pesar de haberse reportado el control de otras enfermedades (Rodríguez *et al.*, 1999).

*C. juncea*, es una planta originaria de la India y Pakistán, tolerante a la sequía, adaptada muy bien a casi todos los tipos de suelos en las zonas tropicales y subtropicales (Wang *et al.*, 2002). En Venezuela la crotalaria se ha utilizado con diferentes propósitos y en una variedad de tipos de suelo, demostrando ser una planta que se adapta a las condiciones edafoclimáticas del país (Bravo y Florentino, 1999; Contreras *et al.*, 1996).

different crops, the losses in sesame sowings are above 10%, particularly in those soils that overcome 200 sclerotia/ g of soil (Cardona, 2006).

The disease symptoms begin with dark lesions in the plant neck, if environmental conditions are favorable, lesions can entirely cover to the stem and to destroy the vascular bundles by causing the plant death (Ávila *et al.*, 1999).

In the search of control alternatives of *M. phaseolina*, numerous procedures have been studied that takes to minimize the losses, among them, fungicides, herbicides (Cardona and Rodriguez, 2002), green manures (Dinakaran and Dharmalingam 1996; Germani and Plenchette, 2004) and with particular interest the *Trichoderma harzianum* Rifaii fungus have been used, but this bio controller has proportioned little encouraging results (Cardona and Rodriguez, 2002), despite of have reported the control of another diseases (Rodriguez *et al.*, 1999).

*C. juncea*, is one plant coming from India and Pakistan, tolerant to drought, well adapted to all soils type in tropical and sub tropical regions (Wang *et al.*, 2002). In Venezuela, crotalaria have been used with different purposes and in one variety of soils type, by showing being an adapted plant adapted to the edaphoclimatic conditions of country (Bravo and Florentino, 1999; Contreras *et al.*, 1996).

This work was carried out with the purpose of evaluating the use of green manure of crotalaria (*Crotalaria juncea* L.) only or in

Este trabajo se realizó con el objetivo de evaluar el uso del abono verde de crotalaria (*Crotalaria juncea* L.) sola o en combinación con aspersiones foliares de *T. harzianum* como alternativas para disminuir los daños causados por el hongo *M. phaseolina* en el cultivo de ajonjolí.

## Materiales y métodos

En el Campo Experimental Turén (CET), ubicado en la Colonia Agrícola Turén, adscrito al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) del estado Portuguesa, durante el ciclo norte- verano se realizó un experimento durante seis años en una parcela de *ca* 800 m<sup>2</sup> (40 m x 20 m), infestada naturalmente con *M. phaseolina*. Los suelos en esta localidad son del tipo Fluventic Haplusteps de textura francosa fina y pH 8,2 (Departamento de suelos del INIA-Portuguesa).

El experimento consistió de tres ensayos, cada uno ejecutado durante dos años en un diseño de bloques al azar y donde se evaluaron los siguientes tratamientos: a) abono verde de crotalaria (AV) y testigo absoluto (TA); b) AV y abono verde + *Trichoderma* (AVT) y c) AV, AVT y TA. En los dos primeros ensayos, se estimó el número de esclerocios/g de suelo (EG), mientras que en el último se evaluó la incidencia de la pudrición carbonosa en ajonjolí.

Durante la ejecución del experimento la parcela se sembró con maíz (*Zea mays* L.) y luego, en el ciclo norte-verano, con ajonjolí var. Píritu. Las labores, (fecha de siembra, preparación de suelo, fertilización y control

communication with foliar aspersions of *T. harzianum* like alternatives for diminishing damages caused by the *M. phaseolina* fungus in sesame crop.

## Materials and methods

In the "Turen" experimental field (CET), placed in the «Turen» agricultural colony, attached to the Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) of Portuguesa state, during the north-summer cycle a six years old experiment was carried out in a plot of *ca* 800 m<sup>2</sup> (40 m x 20 m), naturally infected with *M. phaseolina*. Soils in this locality are Fluventic Haplusteps of loam sandy soil and pH 8.2 (Soils Department of INIA-Portuguesa).

Experiment consisted of three essays; each one executed during two years in at random block design in where the following treatments were evaluated: a) green manure with crotalaria (GM) and absolute control (AC); b) GM + *Trichoderma* (GMT) and c) GM, GMT and AC. In the two first essays, the number of sclerotia/g of soil (SG) was estimated, whereas the last one the incidence of charcoal rot on sesame was evaluated.

During the experiment execution, plot was sowed with corn (*Zea mays* L.) and after, in the north-summer cycle, with sesame var. "Píritu". Labors, (sowing date, soil preparation, fertilization and weed control), were made in the same way to those made by the agricultural people of region.

In this research a commercial strain of de *T. harzianum* (T-22<sup>®</sup>) was used. For its multiplication, fungi

de malezas), se hicieron de igual manera a las realizadas por los agricultores de la zona.

En este trabajo se utilizó una cepa comercial de *T. harzianum* (T-22®). Para su multiplicación, estructuras del hongo se colocaron en cajas de Petri con agar papa dextrosa (PDA), dejándose crecer en ellas por un lapso de dos semanas en condiciones de laboratorio ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ). Transcurrido este tiempo, la superficie del medio se raspó con el extremo de un porta objeto previamente flameado. Para coleccionar las esporas de *T. harzianum* se añadió agua destilada estéril a la caja de Petri con el raspado y la suspensión se hizo pasar a través de una gasa doble esterilizada colocada sobre un beaker esterilizado.

Ensayo 1. Evaluación de abondo verde (AV) y testigo absoluto (TA)

Después de destruir los residuos de la cosecha de maíz con una rastra, la parcela se dividió en dos, la mitad se sembró con crotalaria (AV) al voleo y la otra se dejó sin sembrar (TA). En el tratamiento AV, se distribuyó al voleo semilla de crotalaria a razón de  $100 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Luego de cinco semanas de crecida la crotalaria, se incorporó al suelo al realizar el acondicionamiento del terreno y se procedió a la siembra de toda la parcela con ajonjolí a razón de  $6 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  a chorro corrido y 0,6 m de separación entre hileras.

Las muestras de suelo se coleccionaron en cada tratamiento, a partir de la primera semana de emergidas las plántulas hasta 35 días antes de la cosecha. Las muestras consistieron de *ca* 250 g, conformadas por 10 submuestras tomadas al azar en las

estructuras were placed on Petri dish with potato dextrose agar (PDA), by leaving for growth in them during a period of two weeks in laboratory conditions ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ). After this time, medium surface was roughed with the extreme of a previously flamed cover slides. For knowing spores of *T. harzianum* sterile distilled water was added to the Petri dish with the rough and suspension was made pass through one double and sterilized gauze placed on a sterilized beaker.

### **Essay 1. Evaluation of green manure (GM) and absolute control (AC)**

After destroying residues of corn harvest with a tandem disk, plot was sub divided in two, a half was sowed with crotalaria (GM) broadcast seedling and the other one was left without sowing (AC). In the GM treatment, crotalaria was broadcast seedling distributed at a reason of  $100 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . After five weeks crotalaria growth, was incorporated to soil when making the land conditioning and all the plot was sowed with sesame at a reason of  $6 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  to end-by-end overlapping and 0.6 m separation between rows.

Soil samples were collected in any treatment, from first week of plantlets emerged until 35 days before harvest. Samples consisted of *ca* 250 g, conformed by 10 sub-samples taken at random in the plants rows at a depth of 0-10 cm. In this essay the blocks number was constituted by collection dates of soil samples for determining SG, it means, date one represents the block one, date two represents block two and successively this way.

### **Essay 2. Evaluation of green**

hileras de las plantas a una profundidad de 0-10 cm. En este ensayo el número de bloques lo constituyeron las fechas de colección de las muestras de suelo para determinar el EG, es decir, la fecha uno representa el bloque uno, la fecha dos el bloque dos y así sucesivamente.

### **Ensayo 2. Evaluación de abono verde (AV) y abono verde + *Trichoderma* (AVT)**

Una vez destruidos los residuos de la cosecha del maíz, se distribuyó al voleo en toda la parcela semilla de crotalaria a razón de 100 kg.ha<sup>-1</sup> y se dividió en dos para establecer los tratamientos AV y AVT. En este último tratamiento, las plantas de crotalaria se asperjaron con una suspensión de conidios de *T. harzianum* a razón de 10<sup>12</sup> ufc/mL, cuando alcanzaron las cuatro semanas de edad.

Al cumplir las plantas cinco semanas de edad, se procedió a su incorporación al suelo de la crotalaria. La siembra del ajonjolí, la toma de muestras de suelo y el diseño de experimento se realizó de forma similar que en el ensayo 1.

Para los ensayos 1 y 2, una vez ingresadas las muestras de suelo al Laboratorio de Fitopatología del INIA-Portuguesa, se dividieron en dos porciones iguales, una para determinar el contenido de humedad expresado en porcentaje (%h), exponiéndola a 110°C durante 24 h y la otra, previo secado en Ambiente de laboratorio por 24 h, se maceró en un mortero estéril y se tamizó en una criba N° 60. Del suelo cernido se tomaron 5 muestras de 0,5 g con la finalidad de determinar el EG de *M. phaseolina* por el método de flotación (Watanabe *et al.*, 1970).

### **manure (GM) and green manure + *Trichoderma* (AVT)**

Once destroyed residues of corn harvest, was broadcast seedling distributed all the plot the crotalaria seed at a reason of 100 kg.ha<sup>-1</sup> and it was sub-divided in two for establishing treatments Gm and AC. In this last one, crotalaria plants were sprinkled with a conidia suspension of *T. harzianum* at a reason of 10<sup>12</sup> ufc/mL, when they reached four weeks-old.

When plants reached five weeks-old, were incorporated to crotalaria soil. Sesame sowing, soil samples took and experiment design was made in a similar way than essay 1.

For essays 1 and 2, once soil samples send to the Healthy Plants Laboratory of INIA-Portuguesa, were divided in two equal portions, one for determining moisture content expressed in percentage (%h), by exposing them to 110°C during 24 h and the other one, previously dried on laboratory environment during 24 h, it was marinade on an sterile mortar and was sieved on N° 60. 5 samples of 0.5 g were taken from soil with the purpose of determining SG of *M. phaseolina* by following the flotation method (Watanabe *et al.*, 1970).

### **Essay 3. Evaluation of incidence of charcoal rots disease in the green manure treatments (GM), green manure + *Trichoderma* (GMT) and absolute control (AC).**

For this essay, plot was divided into three strips, in each one of them the treatments were established GM, GMT and AC. Control was constituted by a plot without crotalaria sowing nor

### **Ensayo 3. Evaluación de la incidencia de la enfermedad pudrición carbonosa en los tratamientos de abono verde (AV), abono verde + *Trichoderma* (AVT) y testigo absoluto (TA).**

Para este ensayo la parcela se dividió en tres franjas, en cada una de las cuales se establecieron los tratamientos AV, AVT y TA. El testigo lo constituyó una parcela sin siembra de crotalaria ni aplicación de *T. harzianum* y los otros dos tratamientos se establecieron como se describió anteriormente. Para este caso el diseño consto de cinco bloques y se evaluó la incidencia de la pudrición carbonosa al final de la época de floración de las plantas de ajonjolí.

Los datos de los dos primeros ensayos se procesaron mediante el análisis de varianza y regresión lineal; mientras que para el tercero se determinó la incidencia de pudrición carbonosa, por la relación porcentual de la cantidad de plantas muertas/total de plantas, mediante el análisis de varianza y prueba de Tukey.

## **Resultados y discusión**

Ensayo 1. Evaluación de abono verde (AV) y testigo absoluto (TA).

El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas altamente significativas entre bloques y entre tratamientos, con un coeficiente de variación (CV) de 14,46%, para los dos años de evaluación. En el tratamiento AV, se observó que un valor máximo de 254 y un mínimo de 89 EG, para un promedio de 165,39 EG; mientras que el TA mostró un valor máximo de 309 y un mínimo de 111 EG, promediando 201,04 EG (cuadro 1).

applying of *T. harzianum* and the other two treatments were established like previously described. For this case, design had five blocks and the charcoal rot incidence was evaluated at the end of flowering time of sesame plants.

Data of the two first essays were processed through the analysis of variance and linear regression; whereas for the third one, the charcoal rot incidence was determined by the percentage relationship of dead plants quantity/plants total, through the analysis of variance and Tukey test.

## **Results and discussion**

Essay 1. Evaluation of green manure (GM) and absolute control (AC).

Analysis of variance showed highly significant statistical differences between blocks and treatments, with a variation coefficient (VC) of 14.46%, for the two evaluation years. In the GM treatment, it was observed that a maximum value of 254 and a minimum of 89 SG, for an average of 165.39 SG; whereas AC showed a maximum value of 309 and a minimum of 111 SG, with an average of 201.04 SG (table 1).

Association between the independent and dependent variable SG, showed for the case AC a negative association highly significant ( $P < 0,001$ ;  $R^2 = 0.9158$ ;  $r = -0.957$ ), and for the GM a negative association highly significant ( $P < 0.01$ ;  $R^2 = 0.9274$ ;  $r = -0.963$ ), that for both treatments represents an adequate adjustment goodness for the generated relationship. The prediction equations

**Cuadro 1. Efecto de los tratamientos abono verde (AV) y testigo absoluto (TA), mas abono verde y abono verde + Trichoderma sobre *Macrophomina phaseolina* medidas esclerocios.g<sup>-1</sup> de valor (EG).**

**Table 1. Effect of treatments green manure (GM) and absolute control (AC), more green manure and green manure + Trichoderma on *Macrophomina phaseolina* measured sclerotia.g<sup>-1</sup> of value G).**

CV % <sup>1</sup>	Tratamiento <sup>2</sup>	EG <sup>3</sup> Promedio
14,46 <sup>a</sup>	AV	165,39**
	TA	201,04
10,45 <sup>b</sup>	AV	133,14
	AVT	109,02**

<sup>1</sup>CV%: coeficiente de variación.: a (ensayo 1) y b (ensayo 2) respectivamente.

\*\* Diferencias estadísticas altamente significativas

La asociación entre las variables independiente %h y la variable dependiente EG, mostraron para el caso TA una asociación negativa altamente significativa ( $P < 0,001$ ;

$R^2 = 0,9158$ ;  $r = -0,957$ ), y para el AV una asociación negativa altamente significativa ( $P < 0,01$ ;  $R^2 = 0,9274$ ;  $r = -0,963$ ), que para ambos tratamientos representan una adecuada bondad de ajuste para la relación generada. Las ecuaciones de predicción fueron: TA:  $Y = 301,002 - 17,625X$  y AV:  $Y = 309,465 - 22,627X$  (figura 1).

El análisis de varianza para comparar los contenidos de humedad no mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos AV (6,24%) y TA (5,96%), con un CV = 10,96%.

Los resultados obtenidos en el TA mostraron la misma tendencia que los reportados para esa misma localidad (Cardona *et al.*, 1998; Cardona, 2006), en lo referente a la influencia que tiene la variable independiente

were: AC:  $Y = 301.002 - 17.625X$  and GM:  $Y = 309.465 - 22.627X$  (figure 1).

Analysis of variance for comparing moisture contents did not show statistical differences between GM (6.24%) and AC (5.96%) treatments, with a VC = 10.96%.

Results obtained in AC showed the same tendency than those reported for the same area (Cardona *et al.*, 1998; Cardona, 2006), in reference to the influence of independent variable has on dependent variable SG. Because of tendency described, it can be established that statistical differences between SG averages in GM and AC treatments are caused by the negative effect of GM on *M. phaseolina* population.

Experimental results establish that the use of green manure like nitrogen source diminish the Carbon/Nitrogen (C/N) relationship in soil, factor that affects pathogens



%h sobre la variable dependiente EG. Por la tendencia descrita, se puede establecer que las diferencias estadísticas entre los promedios de EG en los tratamientos AV y TA son debidas al efecto negativo del AV sobre la población de *M. phaseolina*.

Resultados experimentales señalan que el uso del abono verde como fuente nitrogenada disminuye la relación Carbono/Nitrógeno (C/N) en el suelo, factor que afecta el desarrollo de patógenos habitantes del suelo (Germani y Plenchette, 2004; Wang *et al.*, 2002). Esta disminución en la relación C/N influye negativamente en el crecimiento y desarrollo de *M. phaseolina* (Israel *et al.*, 2005).

Sin embargo, pese a los resultados señalados en este ensayo y a un cuándo existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los promedios de EG de los tratamientos AV y TA, se observa en la figura 1 que al inicio el AV afecta negativamente el EG de *M. phaseolina*, pero el AV no mantiene su efecto inhibitor suficiente tiempo, como para reducir la población de esclerocios de *Macrophomina* hasta el final del cultivo, momento en la cual la pudrición carbonosa causa los mayores daños (Cardona *et al.*, 1998). Además, *M. phaseolina* demostró su habilidad competitiva al superar el retardo provocado por el efecto negativo del AV, hecho que se evidencia porque al final del ensayo el EG es igual para ambos tratamientos (figura 1).

### **Ensayo 2. Evaluación de abono verde (AV) y abono verde + *Trichoderma* (AVT)**

El análisis de varianza para este

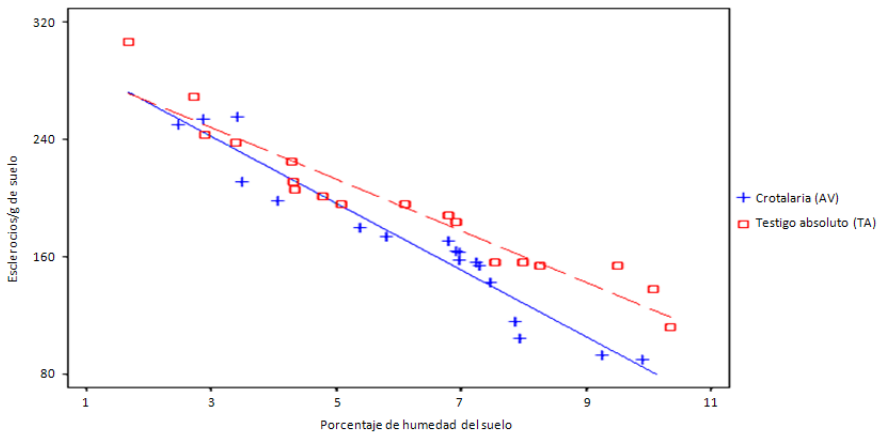
development habitants of soil (Germani and Plenchette, 2004; Wang *et al.*, 2002). This diminishing in C/N relationship has a negative influence on growth and development of *M. phaseolina* (Israel *et al.*, 2005).

However, despite results reported in this essay and even there is highly significant statistical differences between SG averages of Gm and AC, it is observe that in figure 1 that at the beginning the GM affect in a negative way the SG of *M. phaseolina*, but GM do not maintain its inhibitor effect during enough time, like for reducing the sclerotia population of *Macrophomina* until end of cultivation, moment in which the charcoal rot causes the higher damages (Cardona *et al.*, 1998). Also, *M. phaseolina* showed its competitive ability when overcoming the delay caused by the negative effect of GM which is evident because at the end of essay SG is equal for both treatments (figure 1).

### **Essay 2. Evaluation of green manure (GM) and green manure + *Trichoderma* (GMT)**

Analysis of variance for this essay showed highly significant statistical differences between blocks and between treatments and a variation coefficient of 10.45%. GM treatment showed a minimum value of 8.5 SG and a maximum of 174 SG, by giving an average of 133.14 SG; whereas GMT treatment had a maximum value of 162 SG and a minimum value of 66.75 SG, for an average of 109.02 SG (table 1).

The GM treatment showed a highly significant negative statistical



**Figura 1. Regresión lineal entre el número de esclerocios.g<sup>-1</sup> de suelo de *Macrophomina phaseolina* y el porcentaje de humedad del suelo tratado con abono verde (AV) y testigo absoluto (TA).**

**Figure 1. Linear regression between the sclerotia.g<sup>-1</sup> number of soil *Macrophomina phaseolina* and the percentage of soil moisture treated with green manure (GM) and absolute control (TA).**

ensayo mostró diferencias estadísticas altamente significativas entre bloques y entre tratamientos y un coeficiente de variación de 10,45%. El tratamiento AV mostró un valor mínimo de 78,5 EG y un máximo de 174 EG, dando un promedio de 133,14 EG; mientras que el tratamiento AVT tuvo un valor máximo de 162 EG y un valor mínimo de 66,75 EG, para un promedio de 109,02 EG (cuadro 1).

El tratamiento AV mostró una asociación estadística negativa altamente significativa entre las variables % h y EG ( $P < 0,001$ ;  $R^2 = 0,564$ ;  $r = -0,751$ ) y el tratamiento AVT mostró la misma tendencia ( $P < 0,001$ ;  $R^2 = 0,659$ ;  $r = -0,812$ ), para ambos casos representan una adecuada bondad de ajuste con respecto a la relación ge-

association between the variables %h and (P<0.001;  $R^2 = 0.564$ ;  $r = -0.751$ ) and the GMT treatments showed the same tendency (P<0.001;  $R^2 = 0.659$ ;  $r = -0.812$ ), for both cases represents an adequate adjustment goodness respect to the relationship generated. Prediction equations were: GM:  $Y = 159.446 - 2.511X$  and GMT:  $Y = 151.480 - 4.431X$ , (figure 2).

Analysis of variance for comparing the moisture contents did not showed statistical differences between GM (10.44%) and GMT (9.52%) treatments with a VC= 26.29%

In this essay highly significant statistical differences are evident for SG between GM and GMT treatments. In figure 2 is observed

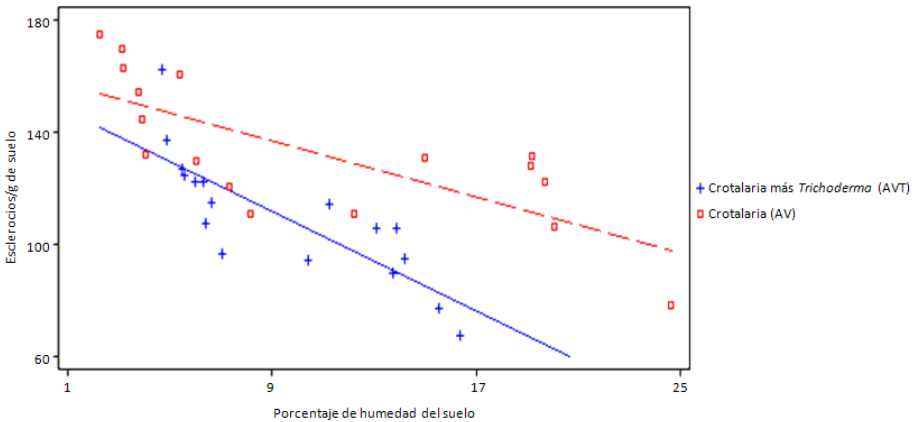
nerada. Las ecuaciones de predicción fueron: AV:  $Y= 159,446 - 2,511X$  y AVT:  $Y= 151,480 - 4,431X$ , (figura 2).

El análisis de varianza para comparar los contenidos de humedad no mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos AV (10,44%) y AVT (9,52%), con un CV= 26,29%

En este ensayo se evidencian diferencias estadísticas altamente significativas para EG entre los tratamientos AV y AVT. En la figura 2 se observa que las líneas de regresión se mantienen separadas durante el periodo de evaluación, demostrando que existe un efecto sinérgico negativo del AV y *T. harzianum* sobre *M. phaseolina*. Se ha señalado que al ino-

that regression lines are separated during evaluation period, by showing that there is a negative synergic effect of GM and *T. harzianum* on *M. phaseolina*. It has been point out that when inoculating compost with a biological controller, the disease control efficiency caused by pathogens fungi habitants of soil is improved (Noble and Coventry, 2005).

Also, a significant reduction of *M. phaseolina* and *Fusarium oxysporum* propagules was observed, likewise the disease incidence caused by these two pathogens when using vegetable residues in combination with *T. harzianum* (Israel *et al.*, 2005). These observations are in



**Figura 2. Regresión lineal entre el número de esclerocios.g<sup>-1</sup> de suelo de *Macrophomina phaseolina* y el porcentaje de humedad del suelo tratado con abono verde (AV-Crotalaria) y abono verde + *Trichoderma*.**

**Figure 2. Linear regression between the sclerotia.g-1 number of soil of *Macrophomina phaseolina* and the percentage of soil moisture treated with green manure (GM-Crotalaria) and green manure + *Trichoderma*.**

cular compost con un controlador biológico, se mejora la eficacia del control de las enfermedades causadas por hongos patógenos habitantes del suelo (Noble y Coventry, 2005).

También, se observó una reducción significativa de los propágulos de *M. phaseolina* y *Fusarium oxysporum* así como de la incidencia de las enfermedades causadas por estos dos patógenos al usar en combinación residuos vegetales con *T. harzianum* (Israel *et al.*, 2005). Estas observaciones concuerdan con los resultados de este experimento, donde se evidencia que el tratamiento AVT reduce significativamente la cantidad de esclerocios de *M. phaseolina*.

#### **Evaluación de la incidencia de pudrición carbonosa.**

El análisis de varianza de las pruebas realizadas durante dos años con los tratamientos, AV, AVT y TA sobre la incidencia de la pudrición carbonosa, mostró diferencias altamente significativas entre los trata-

miento con resultados de este experimento en donde es evidente que GMT treatment reduces in a significant way the sclerotia quantity of *M. phaseolina*.

#### **Evaluation of charcoal rot incidence.**

Analysis of variance of tests made during two years with treatments, GM, GMT and AC on the charcoal rot incidence, showed highly significant differences between treatments. Tukey mean test ( $P < 0.01$ ) determined that GMT treatment showed the little percentage of damaged plants (5.8%), whereas percentages averages of GM (13.8%) and AC (18%) treatment did not show significant statistical differences (table 2).

In this essay the GMT treatment showed highly significant statistical differences respect to GM and AC treatments, whereas GM and AC treatments shows the same statistical percentage of damaged plants. *T.*

### **Cuadro 2. Evaluación de la incidencia de la enfermedad pudrición carbonosa con base al porcentaje de plantas sanas en los tratamientos, testigo absoluto (TA), abono verde (AV) y abono verde + *Trichoderma* (AVT).**

**Table 2. Evaluation of disease incidence charcoal rot in base of percentage of healthy plants in treatments, absolute control (TA), green manure (GM) and green manure + *Trichoderma* (AVT).**

Tratamiento <sup>1</sup>	Incidencia (%)
TA	18 <sup>b1</sup>
AV	13,8 <sup>b</sup>
AVT	5,8 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Prueba de Tukey ( $P < 0,01$ ) Los valores promedios identificados con la misma letra son estadísticamente iguales.

mientos. La prueba de medias de Tukey ( $P < 0,01$ ) determinó que el tratamiento AVT presentó el menor porcentaje de plantas enfermas (5,8%), mientras las medias de los porcentajes de plantas enfermas de los tratamientos AV (13,8%) y TA (18%) no mostraron diferencias estadísticas significativas (cuadro 2).

En este ensayo el tratamiento AVT mostró diferencias estadísticas altamente significativas con respecto a los tratamientos AV y TA, mientras que los tratamientos AV y TA presentan estadísticamente igual porcentaje de plantas enfermas. Se reporta que *T. harzianum* ejerce una acción efectiva en reducir el crecimiento micelial y la formación de esclerocios de *M. phaseolina* y al adicionarse enmiendas orgánicas a razón de  $5 \text{ g.kg}^{-1}$  de suelo, se incrementa su efecto antagónico al reducir marcadamente la incidencia de la pudrición carbonosa a 3,12% de plantas enfermas comparado con el testigo que presentó 43,98% de incidencia (Karthikeyan *et al.*, 2006).

La crotalaria, para ser incorporada al suelo como abono verde, se recomienda sembrar a razón de  $90 \text{ kg de semilla.ha}^{-1}$  antes del cultivo comercial, incorporándose después de 4 a 5 semanas de emergidas las plantas, etapa en la cual la crotalaria contiene 1,7% de N y puede aportar una biomasa entre  $13.449$  y  $15.072 \text{ kg.ha}^{-1}$  *ca* (Dinakaran y Dharmalingam, 1996). Recomendación que concuerda con el método utilizado en el presente trabajo, donde la crotalaria se sembró a razón de  $100 \text{ kg de semilla.ha}^{-1}$  y se incorporo al suelo después de 5 semanas de emergidas las plantas.

Por otra parte, podemos indicar

*harzianum* accomplish an effective action when reducing the mycelium growth and the sclerotia formation of *M. phaseolina* and when adding organic improvements at a reason of  $5 \text{ g.kg}^{-1}$  of soil, its antagonistic increase when markedly reducing the incidence of charcoal rot to 3.12% of damaged plants compared with the control that showed 43.98% of incidence (Karthikeyan *et al.*, 2006).

Crotalaria, for being incorporated to soil like green manure, it is recommend to sowing at a reason of  $90 \text{ kg of seed.ha}^{-1}$  before commercial cultivation, being incorporated after 4 to 5 weeks of plants emerged, stage in which crotalaria contains 1.7% of N and can contribute a biomass between  $13.449$  and  $15.072 \text{ kg.ha}^{-1}$  *ca* (Dinakaran and Dharmalingam, 1996). This recommendation agree with method used in this research, in where crotalaria was sowed at a reason of  $100 \text{ kg of seed.ha}^{-1}$  and was added to soil after 5 weeks of plants emerged.

On the other hand, it is possible to establish that numerous researches makes evident the antagonistic capacity of *Trichoderma* fungal for making a competition with other organisms for biological spaces (Papavizas, 1985), however, the principal limit of its usage is constituted by the lack of an efficient methodology for its application to soil (Cardona and Rodriguez, 2002).

Results obtained in previous essays, in where different application ways of *Trichoderma* were evaluated and were made in the same place during a period of 6 years, shows that in some cases the absolute control

que numerosas investigaciones ponen en evidencia la capacidad antagonica del hongo *Trichoderma* para competir con otros organismos por espacios biológicos (Papavizas, 1985), no obstante la principal limitante de su uso la constituye la falta de una metodología eficiente para su aplicación al suelo (Cardona y Rodríguez, 2002).

Los resultados obtenidos en prueba anteriores, donde se evaluaron diferentes formas de aplicación de *Trichoderma* y que fueron realizadas en la misma localidad durante un periodo de 6 años, muestran que en algunos casos el testigo absoluto presenta menor porcentaje de plantas muertas (Cardona y Rodríguez, 2002).

Cabe destacar que en el presente trabajo se logró superar esta limitante señalada, al aplicar aspersiones foliares de *Trichoderma* a las plantas de crotalaria una semana antes de su incorporación al suelo. Esta técnica garantiza una mejor distribución del antagonista sobre toda el área de siembra, permitiendo a *T. harzianum* competir eficiente y activamente contra *M. phaseolina*.

## Conclusión

El abono verde, en las condiciones de este experimento, no es efectivo en reducir la cantidad de esclerocios de *M. phaseolina* ni la incidencia de la pudrición carbonosa en ajonjolí.

Es viable la utilización de la crotalaria como vehículo para incorporar al suelo un controlador biológico, conclusión derivada de los resultados de los ensayos 2 y 3.

El tratamiento abono verde mas

shows little percentage of dead plants (Cardona and Rodriguez, 2002).

It can be pointed out that in this research this limit was overcome when applying foliar aspersions of *Trichoderma* to crotalaria plants one week before its addition to soil. This technique guarantees a better distribution of antagonistic over the sowing area, by permitting to *T. harzianum* an efficient and active competition against *M. phaseolina*.

## Conclusion

Green manure in this experiment conditions is not effective when reducing the sclerotia quantity of neither *M. phaseolina* or the incidence of charcoal rot in sesame.

The usage of crotalaria is viable like vehicle for incorporating to soil a biological controller, conclusion derived from results of essays 2 and 3.

Treatment green manure more *Trichoderma* showed that the sclerotia quantity of *M. phaseolina* in an enough proportion like to minimize the incidence of charcoal rot in sesame.

It was evident the synergic effect of green manure and *T. harzianum* on *M. phaseolina* control.

*End of english version*

---

*Trichoderma* demostró que reduce la cantidad de esclerocios de *M. phaseolina* en una proporción suficiente como para minimizar la incidencia de pudrición carbonosa en ajonjolí.

Se evidenció el efecto sinérgico del abono verde y *T. harzianum* sobre el control de *M. phaseolina*.

## Literatura citada

- Ávila J., O. Aponte, J.B. Pineda y O. Colmenares. 1999. El cultivo del ajonjolí. FONAIAP. Publicaciones Seriadas. Araure, Venezuela. Centro de Investigaciones del estado Portuguesa. 83 p.
- Bravo C. y A. Florentino. 1999. Nivel de cobertura, conservación de suelos y aguas bajo diferentes sistemas de labranza. Rev. Fac. Agron. 25:57-74.
- Contreras F., C. Rivero y J. Paolini. 1996. Efecto del uso de residuos orgánicos y dos tipos de labranza sobre la actividad de la fosfatasa ácida en un Alfisol. Rev. Fac. Agron. 22:139-149.
- Cardona R., H. Rodríguez y H. Nass. 1998. Dinámica poblacional de microesclerocios de *Macrophomina phaseolina* en un suelo naturalmente infestado y bajo rotación de cultivo. Fitopatol. Venez. 11:23-26.
- Cardona R. y H. Rodríguez. 2002. Evaluación de *Trichoderma harzianum* en el control biológico de *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí. Fitopatol. Venez. 15:21-23.
- Cardona, R. 2006. Distribución vertical de esclerocios de *Macrophomina phaseolina* en un suelo infestado naturalmente en el estado Portuguesa Rev. Fac. Agron. (LUZ). 23: 284-291.
- Dinakaran, D. y V. Dharmalingam. 1996. Management of sesame root rots with organic amendments. Sesame & Safflower Newsletter. 11:17-21.
- Germani, G. y C. Plenchette. 2004. Potential of *Crotalaria* species as green manure crops for the management of pathogenic nematodes and beneficial mycorrhizal fungi. Plant and soil 266:333-342.
- Israel, S., R. Mawar, y S. Lodha. 2005. Soil solarisation, amendments and bio-control agents for the control of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *cumini* in aridisols. Annals of Applied Biology 146:481-491
- Karthikeyan, V., A. Sankaralingam y S. Nakkeeran. 2006. Management of groundnut root rot with biocontrol agents and organic amendments. Archives of Phytopathology and Plant Protection 39:215-223.
- Noble, R. y E. Coventry. 2005. Suppression of soil-borne plant diseases with composts: A review. Biocontrol Science and Technology 15:3-20
- Papavizas, G. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium* biology, ecology and potential for control. Ann. Rev. Phytopathol. 23:23-54.
- Rodríguez, H., H. Nass, H., R. Cardona y L. Alemán. 1999. Alternativas para controlar añublo de la vaina causado por *Rhizoctonia solani* en arroz. Fitopatol. Venez. 12:18-21
- Wang, K., B. Sipes y P. Schmitt. 2002. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management: Review. Nematologica 32:35-57.
- Watanabe, T., R. Smith and W. Snyder. 1970. Population of *Macrophomina phaseolina* as affected by fumigation and cropping. Phytopathology 68:1656-1661.