

**EVALUACION DE *Trichoderma sp.* SOBRE EL HONGO *Fusarium oxysporum.*
CAUSANTE DE LA PUDRICION RADICAL EN CEBOLLA DE RAMA *Allium fistulosum*
EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO**

**EDGAR FERNANDO BOTINA JOJOA
JESUS ALDEMAR YARPAZ BENAVIDES**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
PASTO – COLOMBIA
2008**

**EVALUACION DE *Trichoderma sp.* SOBRE EL HONGO *Fusarium oxysporum.*
CAUSANTE DE LA PUDRICION RADICAL EN CEBOLLA DE RAMA *Allium fistulosum*
EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO**

**EDGAR FERNANDO BOTINA JOJOA
JESUS ALDEMAR YARPAZ BENAVIDES**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero Agrónomo**

**Presidente de tesis
CARLOS BETANCOURTH GARCIA I.A., M.Sc.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PROGRAMA DE INGENIERIA AGRONOMICA
PASTO – COLOMBIA
2008**

"Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo de grado
son responsabilidad de sus autores"

Artículo 1º del Acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966.

Emanado del Honorable Consejo Superior de la
Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación

Carlos Arturo Betancourth I.A., M.Sc
PRESIDENTE

Oscar Checa. Ph.D
JURADO

Alfredo Molina I.A., M.Sc.
JURADO

German Chávez I.A. Esp.
JURADO

San Juan de Pasto, Febrero del 2008

DEDICATORIA

A Dios, padre supremo que nos dio la vida, su amor y la oportunidad de cada día salir adelante y contribuir con su creación para mejorarla

A mi madre, Aura Elisa Jojoa ser único y sincero lleno de amor que con trabajo y lucha diario logró Forjarme un destino.

A mi padre, José Florencio Botina una persona ejemplo de lucha, fortaleza, respeto y dedicación.

A mis hermanas y hermano agradezco el haberme brindado sus consejos y apoyo en los momentos que más lo necesite.

A los amigos que desinteresadamente me brindaron su amistad.

A mis profesores, ejemplo a seguir.

Edgar Fernando Botina Jojoa

DEDICATORIA

A Dios, por regálame la vida, su amor que fortalece mi espíritu que permite siempre salir adelante.

A mi madre, Luz Maria Benavides que supo darme todo su amor y apoyo en los momentos mas difíciles.

A mi padre, José Humberto Yarpaz, quien con su gran paciencia y tolerancia me permitió llegar a cumplir lo propuesto.

A mis hermanas Cristina y Camila por haberme brindado su apoyo en los momentos que más lo necesite.

A la memoria de Carlos Andrés y Diela Andrea.

A mis amigos y amigas que compartieron los mejores momentos en el transcurso de la carrera.

A mis profesores, ejemplo de superación.

Jesús Aldemar Yarpaz Benavides

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

CARLOS ARTURO BETANCOURTH GARCIA I.A., M.Sc. Presidente de Tesis,
Director del Programa de Ingeniería Agronómica

GERMAN ARTEAGA MENESES. Ingeniero Agrónomo. M.Sc. Decano Facultad de
Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

BENJAMÍN SAÑUDO SOTELO. Ingeniero Agrónomo. Docente Facultad de
Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño.

CLAUDIA SALAZAR GONZÁLEZ. Ingeniero Agrónomo. M.Sc. Docente Facultad
de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

LUIS ALFREDO MOLINA VALERO, I.A., M. Sc. Profesor Fitopatología. FACIA.
Universidad de Nariño.

WALTER VALLEJO CALDERON. Licenciado en Sociales. Especialista en
Ecología, encargado del Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Nariño.

La Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Nariño.

Todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron con la realización
del presente trabajo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	
1. OBJETIVOS	21
1.1. OBJETIVO GENERAL	21
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
2. MARCO TEÓRICO	22
2.1. ORIGEN	22
2.2. MANEJO AGRONÓMICO DEL CULTIVO	22
2.2.1. Clima	22
2.2.2. Suelo	23
2.2.3. Preparación del suelo	23
2.2.4. Método de propagación	24
2.2.5. Siembra	24
2.2.6. Fertilización.	25
2.2.7. Variedades	25
2.2.8. Riego	25
2.2.9. Control de malezas	26

2.2.10. Enfermedades	26
2.3. ASPECTOS GENERALES SOBRE LA PUDRICION DE RAIZ Y <i>Fusarium oxysporum</i> CAUSANTE DEL PROBLEMA.	27
2.3.1 Supervivencia del patógeno.	28
2.3.2. Clasificación taxonómica <i>Fusarium oxysporum</i> .	29
2.4 .HONGOS ANTAGONICOS.	30
2.4.1. Importancia de los microorganismos del suelo.	30
2.5. HONGOS DEL GENERO <i>Trichoderma</i> .	31
2.5.1. Taxonomía y genética	33
2.5.2. Rango de hospedantes	33
2.5.3. Ciclo de vida	34
2.5.3.1. <i>Trichoderma</i> comercial (Trichogen ®)	34
2.5.3.2. Productos químicos de control utilizado en pudriciones radicales.	34
3. DISEÑO METODOLOGICO	35
3.1. LOCALIZACION	35
3.2. RECOLECCION DE MATERIAL AFECTADO	35
3.3. RECOLECCION MUESTRAS DE SUELO	36
3.3.1. Aislamiento y purificación de <i>Fusarium oxysporum</i> .	36
3.3.1.1. Identificación del patógeno	36
3.3.2. Aislamiento y purificación de <i>Trichoderma sp</i> A partir del suelo.	37

3.3.2.1. Identificación de <i>Trichoderma sp.</i>	37
3.4. PRUEBAS DE ANTAGONISMO <i>In vitro</i> Y EVALUACIÓN	37
3.5. ANTAGONISMO EN INVERNADERO	38
3.5.1. Variables de respuesta y análisis estadístico	39
3.6. PRUEBA DE ANTAGONISMO EN CAMPO.	39
3.6.1 Variables evaluadas	39
3.6.2 Mapas de distribución de ensayos	40
3.6.3. Identificación morfológica del mejor antagonista	42
4. RESULTADOS Y DISCUSION	43
4.1. AISLAMIENTO DE <i>Trichoderma sp.</i>	43
4.2. ANTAGONISMO <i>in vitro</i> FASE LABORATORIO	45
4.2.1. Crecimiento micelial hasta el encuentro	45
4.2.2. Longitud de invasión de <i>Trichoderma</i> después del encuentro	47
4.3. ANTAGONISMO EN INVERNADERO	50
4.3.1. Crecimiento vegetativo	50
4.3.2. Incidencia	53
4.3.3. Longitud de raíces	54
4.3.4. Materia seca de raíces	55
4.4. ANTAGONISMO EN CAMPO	57
4.4.1. Incidencia después de la aparición de síntomas.	57
4.4.2. Longitud de raíces	58

4.5. DESCRIPCION MORFOLOGICA	60
4.5.1. Características Macroscópicas	60
4.5.2. Características Microscópicas	60
5. CONCLUSIONES	61
6. RECOMENDACIONES	62
BIBLIOGRAFIA	63
ANEXOS	67

LISTAS DE CUADROS

	pág
Cuadro 1. Cepas de <i>Trichoderma</i> obtenidas de diferentes zonas cebolleras del departamento e Nariño.	43
Cuadro 2. Comparación de los promedios de longitud de invasión <i>in Vitro</i> dada en mm, utilizando prueba de Tukey.	48
Cuadro 3. Comparación promedios crecimiento de planta dada en centímetros para <i>semana ocho (en invernadero)</i> , utilizando prueba de Tukey.	51
Cuadro 4. Comparación promedios de crecimiento de planta dada en centímetros para <i>semana doce (en invernadero)</i> , utilizando prueba de Tukey.	51
Cuadro 5. Comparación promedios para mortalidad después de aparición de síntomas (<i>en invernadero</i>), utilizando prueba de Tukey.	53
Cuadro 6. Comparación promedios de longitud de raíces en invernadero dada en centímetros, utilizando prueba de Tukey.	54
Cuadro 7. Comparación promedios Materia seca de raíces en invernadero, utilizando prueba de Tukey.	56
Cuadro 8. Comparación promedios de longitud de raíces en campo dada en centímetros, utilizando prueba de Tukey.	58

LISTAS DE FIGURAS

	pág
Figura 1. Distribución del ensayo en laboratorio	40
Figura 2. Distribución del ensayo en invernadero	41
Figura 3. distribución del ensayo en campo	42
Figura 4. Crecimiento micelial <i>Trichoderma</i> aislado y purificado, en medio de cultivo PDA.	44
Figura 5. Crecimiento micelial <i>Trichoderma sp.</i> en medio de cultivo PDA con 8 días de desarrollo.	44
Figura 6. Crecimiento micelial de <i>Trichoderma sp.</i> en medio de cultivo PDA con 15 días de desarrollo.	45
Figura 7. Antagonismo <i>Trichoderma sp</i> con <i>Fusarium oxysporum</i> .	46
Figura 8. Antagonismo de <i>Trichoderma sp.</i> frente a <i>Fusarium oxysporum</i> después del encuentro.	48
Figura 9. Desarrollo de plantas en invernadero.	52
Figura 10. Longitud de raíces de cuatro tratamientos en invernadero.	54
Figura 11. Prueba en campo.	57
Figura 12. Longitud de raíces en prueba de campo.	59
Figura 13. Descripción tratamiento T2	60

LISTAS DE GRAFICAS

	pág
Grafica 1. Crecimiento micelial de <i>Trichoderma sp.</i> antes del encuentro con <i>Fusarium oxysporum</i> en fase <i>In vitro</i> .	46
Grafica 2. Crecimiento micelial de <i>Trichoderma sp.</i> después del encuentro con <i>Fusarium oxysporum</i> en fase <i>In vitro</i> .	49

LISTAS DE ANEXOS

	pág
Anexo A. Análisis de varianza para crecimiento micelial hasta el encuentro de <i>Trichoderma sp.</i> con <i>Fusarium oxysporum</i> .	68
Anexo B. Análisis de varianza longitud de invasión de <i>Trichoderma sp.</i> después del encuentro.	69
Anexo C. Análisis de varianza crecimiento vegetativo cuarta semana en invernadero.	70
Anexo D. Análisis de varianza crecimiento octava semana en invernadero.	71
Anexo E. Análisis de varianza crecimiento semana doce en invernadero.	72
Anexo F. Análisis de varianza para mortalidad después de aparición de síntomas fase invernadero.	73
Anexo G. Análisis de varianza longitud de raíces fase invernadero.	74
Anexo H. Análisis de varianza materia seca de raíces en invernadero.	75
Anexo I. Análisis de varianza incidencia después de la aparición de síntomas en campo.	76
Anexo J. Análisis de varianza longitud de raíces en prueba de campo.	77

GLOSARIO

ACARO: arácnido de respiración traqueal o cutánea, parásito de otros animales o plantas.

AISLAMIENTO: acción de purificar un compuesto de una mezcla o una línea o cepa pura de un cultivo heterogéneo.

ANTAGONISMO: interacción de dos sustancias biológicamente activas que presentan acciones opuestas en un mismo sistema, como por ejemplo la de una sustancia que inhibe parcial o totalmente, o bien revierte el efecto de la otra.

ANTIBIOSIS: es la capacidad de un microorganismo de producir antibióticos o metabolitos secundarios que suelen ser tóxicos para otros ya que pueden detener su crecimiento o eliminarlos

CLAMIDIOSPORA: tipo de espora característica de los hongos, de membrana reforzada y engrosada para resistir la sequedad.

CONIDIA: tipo de espora que se forma por gemación en el extremo de una hifa.

CONIDIOFORO: tipo especial de esporangio que forma esporas exógenas o externas llamadas conidios.

CONTROL BIOLÓGICO: es una metodología para mantener inocua una población de organismos patógenos por la acción de organismos antagonistas, que ejercen su acción de antibiosis, parasitismo amensalismo, etc.

ENFERMEDAD: disturbio en la fisiología del cuerpo vegetal.

ENZIMAS: grandes moléculas proteicas que catalizan todas las reacciones interrelacionadas de una célula viva, para cada tipo de reacción química que tiene lugar en una célula, hay una enzima distinta que cataliza esa reacción.

ESCLEROCIOS: son estructuras de resistencia producidas por algunos géneros de hongos que le permiten mantenerse en forma latente por varios años cuando las condiciones del ambiente no son las adecuadas para el microorganismo

ESPORANGIO: órgano de la reproducción asexual que contiene esporas que son expulsadas al llegar a la madurez.

ETIOLOGÍA: estudio sobre las causas de las cosas o como objetivo la causa de las enfermedades.

FITOFAGO: organismo heterótrofo que se alimenta de sustancia vegetal.

HIFA: cada uno de los filamentos aislados que forman el cuerpo vegetativo de los hongos.

HONGO: nombre dado a los organismos sin clorofila que viven sobre materias orgánicas en descomposición o parásitos de animales o vegetales.

INOCULACIÓN: proceso mediante el cual un patógeno y su hospedero entran en contacto.

INÓCULO: es cualquier parte del patógeno que puede producir infección.

MICELIO: parte vegetativa de un hongo filamentosos. Consta de una masa de hifas.

MICOPARÁSITO: son hongos que parasitan a otros hongos y que desempeñan una función importante en la regulación de las poblaciones de sus hospederos.

PATOGENICIDAD: capacidad de un parásito para producir una determinada enfermedad.

PATÓGENO: tipo de organismo o medio que origina y desarrolla las enfermedades.

PICNIDIO: cuerpo globoso, con pared pseudoparenquimática, que en su interior lleva conidióforos y conidias las cuales son liberadas a través del ostiolo.

RIZOSFERA: la región inmediatamente adyacente a las raíces de la planta.

SAPROFITOS: organismo que viven a expensas de sustancias orgánicas en descomposición o sobre plantas muertas.

RESUMEN

La presente investigación se realizó en condiciones de laboratorio, invernadero y campo de la Universidad de Nariño, ubicada a 2600 msnm y temperatura promedio de 18° C. Con el objetivo de contribuir en el conocimiento y manejo de la pudrición radical de cebolla junca *Allium fistulosum*. Para ello se efectuaron recorridos de campo en zonas cebolleras del Departamento de Nariño, colectando muestras de suelo para el aislamiento de *Trichoderma sp.* y muestras de tejido afectado para la obtención de *Fusarium oxysporum*; a nivel *in vitro* se realizaron pruebas de antagonismo de siete cepas de *Trichoderma sp.* Vs *Fusarium Oxysporum*.

Como variables de respuesta se evaluó el crecimiento micelial de *Trichoderma sp.* hasta el momento de encuentro y la invasión sobre *Fusarium oxysporum* después del encuentro, en invernadero se probó el antagonismo de la mejor cepa de *Trichoderma* (T2 Buesaquillo) aislada en laboratorio en dos concentraciones (1×10^6 , 6×10^6), y un *Trichoderma* comercial en su concentración recomendada, frente a *F. oxysporum* inoculado ocho días antes de la siembra, las variables evaluadas fueron, mortalidad después de la aparición de síntomas, crecimiento vegetativo y materia seca en raíz. El análisis estadístico se efectuó mediante ANDEVA y Prueba de Significancia de Tukey.

Finalmente se obtuvo como resultado que *Trichoderma sp* (T2 Buesaquillo), es buen antagonista frente a *Fusarium oxysporum* controlando la enfermedad a nivel de invernadero, sin embargo su desempeño en campo no fue eficiente debido a las condiciones ambientales desfavorables.

Palabras claves: *Allium fistulosum.*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma sp.*

ABSTRACT

This investigation took place under laboratory and green house conditions at the University of Nariño. It is situated 2600 msnm and its temperature is around 18 °C. The aim of this research project is to contribute towards the knowledge and management of the radical process of rotten spring onion *Allium fistulosum*. In order to accomplish this, a meticulous observation of the spring onion fields were carried out in the department of Nariño by gathering ground samples for the isolation of *Trichoderma sp.* and samples of infected tissue to obtain *Fusarium oxysporum*; by means of the in vitro process, antagonistic proofs of seven stumps of *Trichoderma sp. vs Fusarium oxysporum*.

The body of *Trichoderma*'s growth was evaluated considering answer variables until the moment of contact and invasion on *Fusarium oxysporum*. After this, in the green house it was analyzed the antagonism of the best stump of *Trichoderma* which was laboratory isolated in two concentrations. And a commercial *Trichoderma* with its recommended concentration in relation to *Fusarium oxysporum* inoculated eight days before sowing.

The evaluated variables indicated mortality after the symptoms' appearance, vegetable growth, and dry matter in the root. ANDEVA and Tukey's significance test were effectuated to conclude with the statistical analysis.

Finally, as a result it was found that *Trichoderma sp.* is a good antagonist in relation to *Fusarium oxysporum* (T2 Buesaquillo), The *Trichoderma* was reduced phythopatology green house conditions, but the antagonistic proofs can't work in the country conditions.

Key words: *Allium fistulosum.*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma sp.*

INTRODUCCION

Las hortalizas constituyen un recurso básico en la alimentación humana, principalmente en las familias de bajos recursos económicos; Ayudan a mantener un buen nivel nutricional, a la vez que representa una fuente de ingreso para el agricultor.

La cebolla junca o de rama *Allium fistulosum*, es de gran importancia en el Departamento de Nariño, que por condiciones de clima y suelo la planta se adapta favorablemente, logrando rendimientos de 6 ton/ha/cosecha, siendo el área sembrada en su totalidad para el Departamento de 744.5 ha en el 2004 y alcanza una vida productiva hasta de 10 años, pudiendo ser cosechada de 3-4 veces por año.¹

Uno de los problemas fitosanitarios que afecta con gran incidencia a este cultivo es la pudrición húmeda del sistema radical y posterior avance a la base del tallo, patología que se le atribuye al complejo del ácaro *Rhizoglyphus sp.* y al hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*, que se distribuye progresivamente hasta afectar la totalidad de la planta, tornándose improductiva ocasionando grandes pérdidas económicas para el sector minifundista.²

No obstante, los esfuerzos de los agricultores para controlar eficientemente el problema, no han sido satisfactorios. Sin embargo, la utilización de agentes biocontroladores como *Trichoderma sp.* se presenta como una opción para

¹ MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Consolidado Agropecuario, acuícola y pesquero. Gobernación de Nariño, Secretaria de Agricultura y Medio Ambiente. 2004, 76p.

² ORTEGA, J. Caracterización del complejo hongo-acaro causante del secamiento de la cebolla junca (*Allium fistulosum*) en el Corregimiento de Buesaquillo Municipio de Pasto. Colombia. 2004. p 60. Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título (Ing. Agrónomo) Universidad de Nariño Facultad de Ciencias Agrícolas.

afrontar este disturbio, ya que mundialmente se ha registrado su acción frente a *Fusarium sp.*³

En la presente investigación se evaluó, una alternativa viable para el control de este disturbio, que está aumentando en su incidencia en las zonas cebolleras del departamento de Nariño, mediante la utilización del hongo *Trichoderma sp.*, como agente biocontrolador de *Fusarium sp.*, en comparación con agentes químicos.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Contribuir en el conocimiento del manejo de la pudrición radical de cebolla junca *Allium fistulosum* ocasionada por *Fusarium oxysporum*.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Colectar, aislar y evaluar cepas antagónicas de *Trichoderma sp.* sobre *Fusarium oxysporum*.

Evaluar en condiciones de invernadero y simultáneamente en campo, aislamientos de *Trichoderma sp.* para el control de *Fusarium oxysporum* causante de la pudrición radical en cebolla junca *Allium fistulosum*.

Realizar una descripción morfológica de la mejor cepa de los diferentes aislamientos de *Trichoderma sp.*, que logre su mejor antagonismo.

³ ANIVIES. Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de educación superior. Avances y perspectivas. www.hemerotecadigital.unam.mz/ANVIES.html. Julio-Agosto, 1998.

2. MARCO TEORICO

2.1 ORIGEN

La cebolla de rama, no se ha encontrado en el mundo en forma silvestre, se cree que es originaria de Gales; aun cuando no ha sido un cultivo muy común en esta región (Lobo y Girard, 1997).⁴

Jaramillo *et al* (1983), afirman que la especie *Allium fistulosum* fue introducida a Colombia por los españoles durante la colonia y hoy es uno de los principales cultivos hortícolas en el país en área y valor de la producción después de la cebolla de bulbo.⁵

2.2 MANEJO AGRONOMICO DEL CULTIVO

2.2.1 Clima. De acuerdo con Collazos, (1998), la cebolla junca o de rama, las mejores producciones se obtienen en áreas comprendidas entre los 1500 a 3000 msnm, en temperaturas que oscilan entre 10 y 20 °C.⁶

⁴ LOBO, A. y GIRARD, O. Algunos aspectos sobre el cultivo de la cebolla de rama. *En*. Curso sobre hortalizas, Instituto Colombiano Agropecuario. Compendio numero 21, 1997. p 41-54.

⁵ JARAMILLO, M. y HERNÁNDEZ, F. Raíz rosada de la cebolla de rama *Allium fistulosum* L. y su distribución en el Departamento de Nariño. Pasto, Colombia, 1983. 42 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Nariño, Facultad de ciencias Agrícolas. (Mecanografiado).

⁶ COLLAZOS, F. Paquete de capacitación en poscosecha y comercialización de cebolla de rama. Bogota, Colombia: sena, 1998. 294p.

La cebolla junca se desarrolla bien en los climas fríos, pero su mayor producción y calidad se obtiene en zonas medias y frías, es decir entre 12 y 20 °C.⁷

2.2.2 Suelo. Según López, (1996), la cebolla junca crece bien en diferentes tipos de suelo, los mejores resultados se han obtenido en suelos de textura liviana (francos) con buen contenido de humedad, buena profundidad y retención adecuada de humedad.⁸

Según CORPOICA (1996) la cebolla de rama se puede sembrar en todos los suelos de Colombia y los rendimientos más altos son de 35-40 ton/ ha, y la mejor calidad se obtiene a temperaturas bajas y suelos con buen drenaje.⁹

La cebolla de rama requiere para su crecimiento de suelos francos, con buen contenido de materia orgánica, buena profundidad efectiva y una permeabilidad que favorezca la adecuada retención de humedad. Además, un factor importante en el cultivo de la cebolla para su normal desarrollo, es el grado de acidez del suelo. Para la mayoría de las hortalizas el pH recomendado está entre 5.5 y 6.8, valores superiores e inferiores disminuyen la disponibilidad de algunos nutrientes o afectan la capacidad de intercambio catiónico del suelo.¹⁰

2.2.3 Preparación del Suelo. Los suelos deben estar bien sueltos; para esto se recomienda realizar dos siembras de papa antes de la siembra de cebolla junca, posteriormente se procede a la surcada para facilitar la aplicación de abonos y la siembra.¹¹

⁷ LOPEZ, A. El cultivo del ajo y de las cebollas en Colombia. Bogota, Colombia: Produmedios. 1996, 114 p.

⁸ Ibid., p .25

⁹ CORPOICA. El cultivo del ajo y las cebollas en Colombia. Bogota, Colombia: Corpoica, 1996.114p.

¹⁰ COLLAZOS, Op. cit., p.24

¹¹ LOPEZ, Op. cit., p. 25

La cebolla de rama o junca se desarrolla bien en suelos de estructura liviana que permite realizar fácilmente labores de precosecha como el aporque, el control de malezas, el riego y otras prácticas que determinan una buena calidad poscosecha.¹²

2.2.4 Método de Propagación. La cebolla de rama puede propagarse sexualmente por semilla o asexualmente mediante hijuelos. En lugares donde existen estaciones se utiliza más, el primer método. En el trópico la planta usualmente no produce semilla sexual por lo tanto se emplea la semilla por hijuelos. La propagación por semilla requiere de semillero y el trasplante posterior lo cual retarda un poco el periodo vegetativo.¹³

Osorio (1992), recomienda utilizar hijuelos de plantas sanas y vigorosas que hayan cumplido su ciclo de maduración, o sea que hayan llegado a su punto de cosecha comercial.¹⁴

2.2.5 Siembra. Por naturaleza del cultivo, se utiliza siembra directa o de asiento, en el sitio definitivo y cuando los cultivos están ubicados en zona de ladera, se deben trazar los surcos en sentido contrario a la pendiente, siguiendo las curvas de nivel.¹⁵

Collazos F (1998), recomienda sembrar cebolla junca en un terreno donde se hayan cultivado antes, papa, maíz u otra planta colonizadora; además, se debe

¹² COLLAZOS, Op. cit., p. 24.

¹³ CORPOICA, Op. cit., p. 25.

¹⁴ OSORIO, B. Generalidades de la producción de hortalizas en Colombia. *En* Primer Curso Nacional de Hortalizas de Clima Frío. Mosquera, Colombia: ICA. 1992 p 5-21.

¹⁵ PEREZ, M y FLOREZ, C. Respuesta de la cebolla (*Allium fistulosum* L). a la fertilización química y orgánica en el suelo del Encano, Municipio de Pasto. Colombia. 1990. p 60. Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título (Ing. Agrónomo) Universidad de Nariño Facultad de Ciencias Agrícolas.

realizar un análisis de suelo con suficiente anticipación para conocer su fertilidad.¹⁶

CORPOICA (2002), afirman que es conveniente realizar la siembra, de tal manera que ésta coincida con la época de lluvias. El suelo debe estar preparado y mediante el empleo de un “palín”, se abren los huecos de siembra a una profundidad de 30 a 40 cm. con distancias de 80 - 90 cm. entre surco y 40 cm. entre planta, en ellos se colocan los hijuelos apisonando el suelo y procurando que éste quede a unos cinco centímetros, por debajo del lugar donde brotan las hojas.¹⁷

2.2.6 Fertilización. Según Pérez y Flórez (1990), el cultivo requiere abundante suministro de nitrógeno para asegurar el buen desarrollo, en especial los pseudotallos; además, buena disponibilidad de potasio, elemento que define la turgencia y consistencia de tejidos de consumo y permite tolerar el exceso de humedad. Es importante atender los requerimientos de elementos menores, pues sus deficiencias afectan los rendimientos y la calidad del producto, como es el caso del cobre. Es importante el uso de materia orgánica.¹⁸

2.2.7 Variedades. Los genotipos de comercialización en las zonas de producción, que se siembran corresponden a blancos, amarillos, morados o rojos y se diferencian con nombres de acuerdo al color; Existen algunas diferencias en desarrollo y se denominan “zancona” y “junca” dada su propagación clonal. Las variedades cultivadas en las zonas productoras corresponden a imperial, junca, pajarita, silvana, jartona y Tuquerreña, aunque se conocen otros tipos clonales o selecciones regionales que han desaparecido como es el caso de la Pola y otros genotipos regionales.¹⁹

2.2.8 Riego. La cebolla Junca presenta raíces que se encuentran en un radio de 15 a 20 cm de la planta y hasta una profundidad de 30 a 60 cm por lo tanto; El

¹⁶ COLLAZOS, Op. Cit., p. 24.

¹⁷ CORPOICA. Novedades técnicas, Revista Regional. 2002. No 1 Junio.

¹⁸ PÉREZ Y FLORES, Op. cit., p. 27.

¹⁹ LÓPEZ, Op. cit., p.25

agua de riego debe llegar hasta la base de ella para estimular el funcionamiento de las raíces maduras y el crecimiento de las nuevas, especialmente cuando se acaba de realizar las cosechas.²⁰

Los cultivos de cebolla Junca requieren de 20 a 30 mm de lámina de agua por semana y de 350 a 550 mm por cosecha según las épocas de siembra y la altitud. Riego durante la semana previa a la cosecha afecta el manejo postcosecha, disminuyendo su calidad.²¹

2.2.9 Control de Malezas. El cultivo debe mantenerse libre de malezas; la prevención debe ser más rigurosa al inicio del cultivo, controlándose químicamente con productos como prometrina, oxodiozon u oxifluorofen en dosis recomendadas en cada producto comercial. Como graminicida selectivo se puede utilizar fluazifopbutil.²²

De acuerdo con López (1996), una de las prácticas que más eleva el costo de producción de este cultivo es el manejo de las malas yerbas, las cuales ascienden hasta un 20 a 25 % del total de los costos de producción.²³

2.2.10 Enfermedades. López A (1996),²⁴ estima que el mayor problema para los cultivadores de cebolla de tallo son las enfermedades producidas por hongos, las cuales causan amarillamiento y manchas en las hojas de diferentes formas y

²⁰ COLLAZOS, Op. cit., p. 24

²¹ CORPOICA, Op. cit., p. 25

²² OSORIO, Op. cit., p. 26

²³ LÓPEZ, Op. cit., p.25

²⁴ *Ibíd.*, p. 25

tamaños conocidos por los agricultores como la gota, quemazón y pudrición radical; las cuales son:

- Mildeo Velloso *Peronospora destructor Berk*
- Mancha Púrpura *Alternaria porri Ell*
- Secamiento de Puntas *Heterosporium alli Campenille*
- Secamiento *Stenphyllium allii*
- Pudrición Blanca *Sclerotium cepivorum*
- Raíz Rosada *Pyrenochaeta terrestres Hansen; Gorenz, Walker y Laison*
- Pudrición de cuello o moho gris *Botrytis Alli Munn.*
- Pudrición De Raíz *Fusarium oxysporum*
- Nematodos *Dithylechus Dipsaci*

2.3 ASPECTOS GENERALES SOBRE LA PUDRICION DE RAIZ Y *Fusarium oxysporum* CAUSANTE DEL PROBLEMA

Es el problema más limitante en este cultivo, ataca con alta incidencia a la plantación hasta llevarla a ser improductiva, se caracteriza por causar una pudrición radical que ocasiona la muerte descendente de la planta.²⁵

En cuanto a los síntomas de la enfermedad, Leguizamón y Barriga (1981), opinan que “el *Fusarium oxysporum*, ocasiona secamiento de las hojas en forma descendente con pudrición de raíces. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (Hanz), pudre las raíces de la base del tallo y en la zona afectada se aprecia un moho blanquecino formado por el micelio y esporas del hongo. “El hongo *Fusarium oxysporum* penetra en por heridas ocasionadas por larvas de insectos o ácaros, que las producen al alimentarse, o mecánicas que se hacen con herramientas al efectuar labores culturales, en la cosecha al “deshijar” quedan heridas o cortes de raíces, por tal razón se recomienda tratamiento de la semilla y también al suelo

²⁵ ORTEGA, Op. cit., p.21

antes de la siembra y a la cosecha, antes de tapar la planta aplicar un tratamiento los mismo que un encalado al fondo del surco, según el análisis de suelos.²⁶

2.3.1 Supervivencia del Patógeno. Elías *et al.*, (1993), describen que *Fusarium oxysporum*, presenta tres tipos de esporas: macroconidias, microconidias y clamidosporas. Las macroconidias se disponen sobre conidióforos ramificados o sobre la superficie del esporodonquio y su forma puede ser curvada en forma de hoz, con ápice atenuado; con la base en muchos casos pedicelada. Las microconidias no tienen septas y su forma es elíptica, reniforme a ovalada, también es posible hallar la forma oval-elipsoidal cilíndrica con las extremidades agudas. Las clamidosporas se forman individualmente o en pares, siendo generalmente el primer tipo y ocasionalmente, formando una cadena.²⁷

El hongo para su desarrollo prefiere temperaturas que oscilan entre 15 y 32 °C. La enfermedad es más severa en aquellas regiones donde el suelo alcanza altas temperaturas y cuando las plantas llegan a su periodo final de maduración; la pudrición continúa durante el almacenamiento, si la temperatura permanece alrededor de los 28 °C.²⁸

Sañudo, *et al.*, (2001), afirman que el desarrollo de especies de *Fusarium sp.* se realizan mejor en suelos arenosos y ácidos, porque en los suelos arcillosos y en alcalinos se tornan supresivos debido a la acción de bacterias competitivas, en algunas especies ocasionan lisis de los tubos germinativos del hongo.²⁹

²⁶ LEGUIZAMON, C. J. y BARRIAGA, C. R. Enfermedades del ajo (*Allium sativum* L.) en Cundinamarca y Boyacá. En: Noticias Fitopatológicas Colombia: 1981. 3 (1): 4-19.

²⁷ ARBELAEZ, G. ARCOS, O. ELIAS, R. Estudio de antagonismo de algunas especies de *Trichodermas*, aislados De suelos Colombianos en el Control de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. Agronomía Colombiana, Vol. 10 No 1, 1993.

²⁸ ORTEGA, Op. cit., p. 21

²⁹ SAÑUDO, B. ARTEAGA, M. Y VALLEJO, W. Fundamentos de Micología Agrícola. Pasto, Colombia: Editorial Universitaria. 2001, 201p

Según Ortega (2004), *Fusarium oxysporum*, en medio de cultivo presenta un micelio claro, algo denso, que luego tiende a rosado blanquecino, a veces tiñendo el medio con tonalidad púrpura.³⁰

Callow, (1992), registra que "*Fusarium oxysporum* es un saprófito del suelo y dada sus condiciones atacan los sistemas radicales, aprovechando daños mecánicos y el ataque de algunos insectos, en muchos casos se presenta en las plantas como síntomas externos del ataque de estos organismos.³¹

La interacción de *Rhizoglyphus echinophus* más *F. oxysporum* presentan el mayor porcentaje de plantas muertas debido a que posiblemente el ácaro facilita la entrada del hongo haciendo que los compuestos de lignina presentes en la planta sean más asimilables para el hongo, dado que las enzimas producidas por algunas especies de *Fusarium sp.* no llegan a afectar el compuesto de "protección" de la planta como la celulosa, estos organismos se valen de animales que ingieren parte del material original, en especial si este contiene hifas de hongo, y lo depositan en sus heces. Al hacerlo, los animales trituran el material, haciéndolo más accesible a los microorganismos.³²

2.3.2 Clasificación taxonómica *Fusarium oxysporum*:

División: *Deuteromycota*
Clase: *Deuteromycetes*
Orden: *Moniliales*
Familia: *Tuberculariaceae*
Género: *Fusarium*
Especie: *Fusarium oxysporum*
(Agrios 2004).³³

³⁰ Ibid., p.31

³¹ CALLOW, J. Recognitong, resistance and the role of plant lectinsing hostparasite interaction. In: Advances in botanical research. 4. 1992. 99p.

³² ORTEGA, Op. cit., p. 21

³³ AGRIOS, G. Fitopatología. México: Limusa .2004. 850p

2.4 HONGOS ANTAGÓNICOS

2.4.1 Importancia de los microorganismos del suelo. Los microorganismos del suelo, son los componentes más importantes de éste. Constituyen su parte viva y son los responsables de la dinámica de transformación y desarrollo. En un solo gramo de tierra, se encuentran millones de microorganismos que se encuentran en el suelo, son bacterias, actinomicetes, hongos, algas y protozoarios.

Un suelo fértil es aquel que contiene una reserva adecuada de elementos nutritivos disponibles para la planta, o una población microbiana que libere nutrientes que permitan un buen desarrollo vegetal.³⁴

En un sentido amplio y según la definición de Cook y Baker (1983), el control biológico involucra todas aquellas prácticas tendientes a disminuir la incidencia de enfermedades incluyendo el control químico; nos referimos al control biológico, como el uso de microorganismos antagonistas que interfieren en la supervivencia de patógenos o en el desarrollo de actividades determinantes de enfermedades.³⁵

En la naturaleza existe una interacción continua entre los potenciales patógenos y sus antagonistas de forma tal que estos últimos contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos; es decir, el control biológico funciona naturalmente. En condiciones naturales, los microorganismos están en equilibrio dinámico en la superficie de las plantas. La disminución de la flora por prácticas agrícolas como lavado de frutas, aplicación de fungicidas entre otras, favorecen el desarrollo de los patógenos.³⁶

³⁴ AGRIOS, Op. cit., p.32

³⁵ COOK, J. y BAKER, K. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul, Minnesota. APS Press 1983. 539p.

³⁶ ROLLÁN, M., MÓNACO, C. LAMPUGNANI, G. y ARTETA, N. 1998. Variación de la población de hongos antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum* en el suelo por la aplicación de agroquímicos, en Primer Congreso Argentino de Control Biológico de Enfermedades de Plantas. Acta de resúmenes. Universidad de Buenos Aires, Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Buenos Aires, Argentina. 1998, p. 27

2.5 HONGOS DEL GÉNERO *Trichoderma sp.*

Según INFOAGRO (2005), el género *Trichoderma sp.* está compuesto por hongos que se encuentran presentes en forma natural, en casi todos los suelos, es un Deuteromycete perteneciente al grupo de los Hifomycetes, y se caracteriza porque se desarrolla rápidamente y emite gran cantidad de esporas verdes. Es un hongo que frecuentemente se encuentra sobre madera y tejidos vegetales en descomposición.³⁷

Debido a su naturaleza agresiva y su capacidad metabólica para competir con la abundante microflora circundante, es un organismo dominante en los suelos, al introducir en el suelo algún producto con este hongo, las cepas de *Trichoderma* germinarán y desarrollarán un micelio óptimo y necesario para actuar frente a los patógenos, que estén presentes en el suelo o que pudieran llegar a aparecer.³⁸

Según INFOAGRO, (2005), este hongo es fácil de aislar y reproducir, por lo que muchas empresas están apostando por su comercialización, ya que al aplicarlo al suelo beneficia a la planta y no la perjudica. Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de abundantes raíces, las cuales, son colonizadas rápidamente por estos microorganismos. Algunas cepas son componentes importantes de la rizosfera.³⁹

Herrera y Corsoli (1998), manifiestan que su facilidad para colonizar las raíces de las plantas, *Trichoderma sp.* desarrolla mecanismos para atacar y parasitar a otros hongos y así, aprovechar una fuente nutricional adicional. Recientemente, han sido demostrados varios mecanismos con los cuales actúa *Trichoderma sp.* como biocontrolador y como colonizador de las raíces:

³⁷INFOAGRO. Microorganismos del Suelo benéficos para los cultivos. www.infoagro.com/hortalizas_beneficiosos_cultivos.html, Octubre 2005.

³⁸ REVFACARGRONLUZ. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma sp.* para el control de hongos fitopatógenos del suelo. www.revfacargronluz.org.ve/v16_5/v165z006.htm. Marzo-Abril 2005.

³⁹ Ibid., p.34

- Micoparasitismo.
- Antibiosis.
- Competición por nutrientes y espacio.
- Tolerancia al estrés por parte de la planta, al ayudar al desarrollo del sistema radical.
- Solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos.
- Resistencia inducida.
- Desactivación de las enzimas de los patógenos.⁴⁰

De acuerdo con Castro y Rivillas (2007), el damping-off en el cultivo de café, causada por el hongo *Rhizoctonia solani*, que reduce el porcentaje de germinación de las semillas, afectando el crecimiento de fósforos o de chapolas. Evaluando el efecto de *Trichoderma harzianum* se logró un 93 % de germinación e incidencia de la enfermedad de 5%, en comparación con un testigo absoluto que presentó un 80 % de germinación e incidencia de 35%, confirmando la eficacia de *T. harzianum* contra *R. solani* en germinadores de café.⁴¹

Buitrago *et al*; (2006) el control biológico es una alternativa ante la ineficiencia de los productos agroquímicos y sugieren la aplicación de *Trichoderma harzianum* para el problema de pudrición de raíz y corona en arveja, causada por *Fusarium oxysporum* obteniéndose buenos resultados, este efecto se potencializa si se combina con *Glomus intraradices*.⁴²

⁴⁰ HERRERA, A y CORSOLI, C. Medioambiente, Control Biológico y Hongos Parásitos Y Perspectivas. 1998 No 17. p. 1955-204

⁴¹ CASTRO, A. y RIVILLAS, C. Validación del antagonismo de *Trichoderma harzianum* sobre *Rhizoctonia solani* en germinadores de café. Chinchiná, Colombia: CENICAFE. 2007, 74p.

⁴² BUITRAGO, J. DUARTE, C. y SARMIENTO, A. El cultivo de la arveja en Colombia, Fenalce. Bogota, Colombia: Produmedios. 2006, 102p.

2.5.1 Taxonomía y genética. Para Mádigan, B (1998), la mayoría de cepas de *Trichoderma sp.* no poseen etapa sexual, por lo que producen únicamente esporas asexuales. Sin embargo, se conoce la etapa sexual de unas pocas especies, pero no han sido consideradas para propósitos de biocontrol. La etapa sexual, cuando está presente, se encuentra bajo los hongos *Ascomycetes* en el género *Hypocrea*. La taxonomía tradicional está basada en las diferencias morfológicas, principalmente en el aparato de esporulación asexual; en la actualidad ya se están empleando técnicas moleculares para la identificación y clasificación de los organismos. Consecuentemente, el taxa ha ido de nueve a, por lo menos, 33 especies. Mientras que las cepas silvestres se adaptan con facilidad y pueden ser heterocarióticas (núcleos de distinto genotipo dentro de un mismo organismo), las cepas comerciales usadas para control biológico pueden ser (o son) homocarióticas (núcleos similares o idénticos). Este aspecto, en conjunto con el control estricto de la variación a través de la deriva génica, permite que las cepas comerciales no presenten mayor variabilidad.⁴³

2.5.2 Rango de hospedantes. Diferentes cepas de *Trichoderma sp.* pueden controlar a cada hongo patógeno para el cual se ha diseñado un programa de biocontrol. Sin embargo, la mayoría de cepas de *Trichoderma sp.* a son más eficientes para controlar a ciertos patógenos, pudiendo ser ineficaces contra algunos hongos. Se ha descubierto recientemente, que algunas cepas pueden inducir a las plantas para que "enciendan" su mecanismo de defensa, esto hace pensar que se podrían controlar a otros patógenos a parte de los hongos.⁴⁴

Agrios (2002), afirma que generalmente, *Trichoderma sp.* controla patógenos habitantes del suelo, como por ejemplo, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Phytophthora*, *Fusarium* etc.⁴⁵

⁴³ MADIGAN, B. Biología de Los Microorganismos. México: Brock. 1998, 478p

⁴⁴ CONTROL BIOLÓGICO. Biocontrol, el control biológico protege al hombre y sus productos. www.controlbiologico.com/monog.trichoderma.htm. Mayo 2005.

⁴⁵ AGRIOS, G. Fitopatología. México: Limusa .2002. 836p.

2.5.3 Ciclo de vida. Control Biológico (2005), afirma que el organismo crece y se ramifica desarrollando hifas típicas de hongos de 5 a 10 μ de diámetro. La esporulación asexual ocurre en conidios unicelulares (3 a 5 μ de diámetro), usualmente de color verde, liberados en grandes cantidades. También se forman clamidosporas de descanso, también son unicelulares, pero pueden fusionarse entre dos o más.⁴⁶

2.5.3.1 Trichoderma comercial (Trichogen ®). Es un fungicida biológico preventivo para el control de patógenos y enfermedades del suelo que atacan las raíces. El ingrediente activo es *Trichoderma harzianum*. su dosis es de un gramo por litro de agua. Este hongo crece y se ramifica en típicas hifas que pueden oscilar entre 3 a 12 μ m de diámetro, según las condiciones del sitio en donde se esté reproduciendo. La esporulación asexual ocurre en conidios unicelulares de color verde generalmente tienen 3 a 6 μ m de diámetro. Como mecanismo de acción, el *Trichoderma* al ser aplicado a las raíces, forma una capa protectora, haciendo una simbiosis. El hongo se alimenta de los exudados de las raíces y las raíces son protegidas por el hongo y al mismo tiempo reduce o elimina las fuentes de alimento del patógeno. El *Trichoderma* actúa como una barrera para prevenir la entrada de patógenos a las raíces. Tienen una acción de hiperparasitismo, que es la acción del microorganismo que parasita otro organismo de su misma naturaleza, es decir, lo utiliza como alimento y lo destruye. Compete por espacio y nutrimentos con los hongos patógenos. Existen varias formas de aplicación pero se recomiendan las siguientes: En vivero, al trasplante, en cultivos establecidos y aplicaciones foliares. Algunas de las ventajas que brinda el uso de *Trichoderma sp.* son las siguientes: Protección a la planta, las plantas producen sistemas radiculares más grandes, no es nocivo para el operario ni para el medio ambiente, no deteriora la fauna benéfica, permite establecer programas de manejo integrado, no tiene efectos tóxicos por acumulación en aplicaciones sucesivas y no tiene límite máximo de residuos.⁴⁷

2.5.3.2 Productos químicos de control utilizado en pudriciones radicales (Benzimidazoles). Estos productos actúan en la mitosis, impidiendo la formación del uso acromático durante la profase y su acción se da principalmente contra

⁴⁶ CONTROL BIOLOGICO, Op. cit., p.36

⁴⁷ TRABANINO, Rogelio; KUNIYOSHI, Claudia; MICHEL, Marco. Manual de agentes de control biológico. Centro de control biológico para Centroamérica. Honduras, El Zamorano.2003.

Deuteromycotina y Ascomycotina, además de tener efecto en Zigomycotina y Carbones, pero no son efectivos contra Royas y Oomycetes. Se recomienda para tratamiento de semillas, aplicaciones al suelo, inyecciones y aplicaciones foliares, teniendo efecto sistémico preventivo y curativo. Los productos más utilizados en control de pudrición corresponden a Derosal, Carbin, Goldzim, Makio, Curabarb, Kemdazim entre otros su ingrediente activo es Carbendazim (metil-benzimidazol-2-ilcarbomato. 500gramos por litro de formulación), es un fungicida sistémico de rápida penetración, amplio espectro con efecto preventivo y curativo su dosis de uso: 30 – 40 CC por 20 litros de agua.⁴⁸

3. DISEÑO METODOLOGICO

3.1 LOCALIZACION

El trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Nariño a una altura de 2600 msnm con temperatura promedio de 18 °C y condiciones de invernadero de la misma entidad; mientras la fase simultanea de campo se estableció en el Corregimiento de Buesaquillo Municipio de Pasto con 2650 msnm, con temperatura promedio de 12 °C y 1100 mm de precipitación anual.

3.2 RECOLECCION DE MATERIAL AFECTADO

En las zonas productoras del Departamento de Nariño donde se presenta la mayor incidencia de la enfermedad, correspondiente a los Municipios de Pasto y Potosí, se tomaron 12 muestras, respectivamente; seleccionando en cada Municipio, zonas productoras representativas Pasto (Buesaquillo, El Encano y La Laguna), Potosí (Purbuntud, Potosí); en cada una de ellas se procedió a tomar 4 muestras, cada una con dos tallos de material afectado, los que se empacaron en

⁴⁸ SAÑUDO, Op. cit., p. 31

bolsas de papel recubiertas con otra de polipropileno y siendo transportadas al Laboratorio de la Universidad de Nariño para su posterior procesamiento.

3.3 RECOLECCION MUESTRAS DE SUELO

En los sitios anteriormente mencionados se realizó la recolección de muestras de suelo tomando la rizosfera de plantas aparentemente sanas y se depositó 500g en bolsas de polietileno, llevándose dichas muestras al Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Nariño.

3.3.1 Aislamiento y purificación de *Fusarium oxysporum*. Con el material vegetal recolectado, se realizó un lavado con agua corriente, tomando trozos de tejidos sintomáticos, de tamaño 5mm x 5mm y posteriormente fueron sometidos a un lavado con agua destilada durante un tiempo de 2 minutos, para desinfectar con una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 3 minutos, y posterior enjuague en agua destilada durante un minuto.

Estas muestras de tejido fueron sembradas en cajas petri con medio de cultivo PDA en concentración 50g por litro de agua, acidificado con ácido sulfúrico al 5 %, incubándose a temperatura ambiente hasta el desarrollo de colonias fungosas y purificándose el hongo *Fusarium sp*, por su apariencia en las colonias blancas o rosadas.

3.3.1.1 Identificación del patógeno. La identificación del patógeno se realizó siguiendo las claves taxonómicas descritas por Alexopoulos, et al, (1996), con base en estructuras reproductivas como: conidias, macroconidias, clamidosporas y esporodonquios.⁴⁹

⁴⁹ ALEXOPOULUS, C.J, MIM, C, W y BLACKWELL, M. Instructory micology. New York: Willey y Sons, 1996. 378p.

3.3.2 Aislamiento y purificación de *Trichoderma sp.* a partir del suelo. La obtención de *Trichoderma sp.* se realizó tomando cada muestra correspondiente a las diferentes zonas donde se presentó la enfermedad, se pesaron 10 gramos de suelo por muestra, se agregaron 90 ml de agua destilada estéril; logrando la primera disolución de 10^{-1} , de esta solución se transfirió 1 ml a un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada, y así conseguir la disolución 10^{-2} , de esta manera sucesivamente hasta 10^{-6} .

En cajas petri esterilizadas con medio de cultivo PDA acidificado con H_2SO_4 a concentración 0.5 N, se depositó 1 ml de cada disolución a excepción de 10^{-1} ; esta disolución no se usó por tener la mayor concentración de estructuras reproductivas de microorganismos presentes en el suelo, situación que dificulta la purificación de las colonias presentándose contaminación. Las demás disoluciones se incubaron a temperatura ambiente hasta la aparición de colonias fungosas.

3.3.2.1 Identificación de *Trichoderma sp.* La identificación de *Trichoderma sp.* se realizó teniendo en cuenta la morfología y disposición de las fiálides y conidias, su esporulación verde y olor típico a coco; según los criterios taxonómicos establecidos por (Alexopoulos *et al*, 1996) seguido a esto se procedió a purificar cada colonia en PDA.⁵⁰

3.4 PRUEBAS DE ANTAGONISMO *In Vitro* Y EVALUACION

Con *Trichoderma sp* y *Fusarium oxysporum* purificados, se realizaron pruebas de antagonismo *In vitro*, para lo cual se sembraron discos de un centímetro de diámetro de la colonia pura, extraída con sacabocados en los extremos de la caja petri con PDA, de tal manera que se sitúen antagónico vs patógeno teniendo en cuenta que *Fusarium oxysporum*, se sembró tres días antes que el antagonista.

Se utilizaron las cepas obtenidas de *Trichoderma sp.* correspondientes a siete tratamientos de la siguiente manera: T1 (Pasto, La laguna), T2 (Pasto, Buesaquillo), T3 (Potosí, centro), T4 (Potosí, centro), T5 (Pasto, La laguna), T6 (Potosí, Purbuntud), T7 (Pasto, Encano), con tres repeticiones en un diseño

⁵⁰ ALEXOPOULUS, Op. cit., p. 39

irrestrictamente al azar, que se llevaron a incubación en temperatura ambiente (ver Figura 1).

Se realizó un seguimiento durante 6 semanas, con el fin medir en milímetros con ayuda de nonio, el crecimiento micelial de los hongos *Trichoderma sp* y *Fusarium oxysporum*.

Para las colonias de hongos antagónicos que detuvieron el crecimiento del patógeno, se determinó longitud de invasión en milímetros. Además, que se suspendió cuando el aislamiento del antagónico logró crecer hasta el extremo opuesto sobre el crecimiento micelial del patógeno.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un Análisis de Varianza y una Prueba de Significancia Tukey.

3.5 ANTAGONISMO EN INVERNADERO

El mejor aislamiento de *Trichoderma sp*, obtenido en laboratorio por su capacidad de inhibición se evaluó en fase de invernadero. Para la distribución de este ensayo se realizó un arreglo irrestrictamente al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones, correspondiente al tratamiento antagónico *Trichoderma sp*, en concentraciones 1×10^6 , y 6×10^6 conidias por mililitro (T1, T2) respectivamente, *Trichoderma* comercial (T3), y un testigo únicamente inoculado con *Fusarium oxysporum* (T4).

Para esta prueba, se llenaron 60 bolsas de polietileno de 5 Kg de capacidad con suelo más arena en proporción 2:1 previamente esterilizado con formol al 10% para evitar contaminación con otros tipos de microorganismos; posterior a esto se inoculó cada bolsa con 50 CC de solución a concentración de 1×10^6 esporas por mililitro de *Fusarium oxysporum* ocho días antes de la siembra asegurando la presencia del patógeno; la unidad experimental correspondió a cinco bolsas depositando en cada una dos tallos de cebolla junca (ver Figura 2), y se aplicó 50 CC de las soluciones de cada tratamiento de *Trichoderma sp*. a las unidades

experimentales a excepción del testigo inoculado únicamente con *F. oxysporum* (T4).⁵¹

3.5.1 Variables de respuesta y análisis estadístico. Se midió a partir de la siembra el crecimiento vegetativo de cebolla junca durante el periodo de estudio cada 8 días, para un total de 12 evaluaciones que se usaron para graficar las curvas de desarrollo; sin embargo para las evaluaciones estadísticas se utilizaron únicamente las semanas 4, 8 y 12. Al final del ensayo se evaluó la incidencia, longitud y materia seca de raíces.

Los datos obtenidos se interpretaron mediante un Análisis de Varianza y una Prueba de Significancia Tukey.

3.6 PRUEBA DE ANTAGONISMO EN CAMPO

La fase simultanea de campo se realizó en el corregimiento de Buesaquillo Municipio de Pasto, en un lote con antecedentes al problema de *Fusarium oxysporum* con un área experimental de 28.8 m²

Se utilizó un arreglo de bloques completos al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones. Los bloques tuvieron un area de 9,6 m² y las unidades experimentales presentaron un area de 2.4 m² correspondiente a dos surcos sembrados a una distancia de 80 cm entre surco y 30 cm entre planta, para un total de 5 sitios por surco, depositando dos tallos por sitio, para cada tratamiento. (Ver Figura 3).

3.6.1 Variables evaluadas. Se determinó el porcentaje de incidencia, contabilizando la cantidad de plantas enfermas en relación a la totalidad de las plantas presentes en cada parcela experimental y longitud de raíces en centímetros medidos desde la base del tallo hasta la parte terminal de las raíces,

⁵¹ SAÑUDO, B. CASTILLO, G. Y RAMIREZ, B. Principios de control biológico de fitopatógenos. Pasto, Colombia: UDENAR. 1994, 198p.

se realizó una lectura después de la aparición de los síntomas, al final del ensayo. Los datos en porcentaje se transformaron por la fórmula $\text{ARCSEN } \sqrt{\%}$.

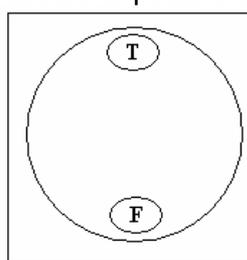
Los datos obtenidos se interpretaron mediante un Análisis de Varianza y una Prueba de Significancia de Tukey.

3.6.2 Mapas de distribución de ensayos.

Figura 1. Distribución del ensayo en laboratorio

T7R1	T6R1	T5R1	T4R1	T3R1	T2R1	T1R1
T4R2	T5R2	T2R2	T3R2	T1R2	T6R2	T7R2
T7R3	T6R3	T1R3	T2R3	T4R3	T3R3	T5R3

Parcela experimental



(T) = Disco Trichoderma

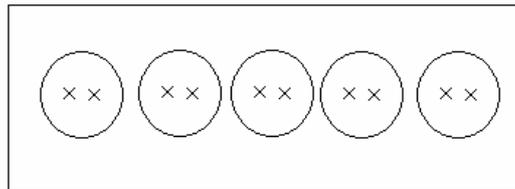
(F) = Disco Fusarium Oxysporum

(Large Circle) = Caja petri

Figura 2. **Distribución del ensayo en invernadero**

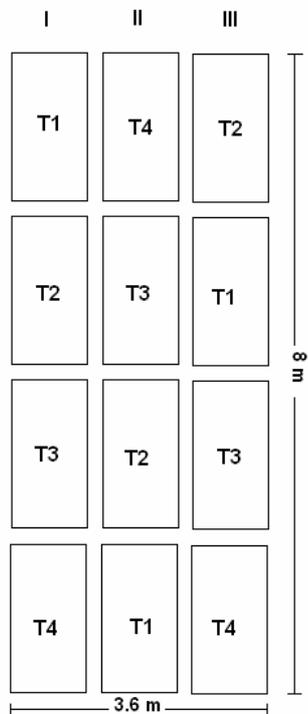
	4 m				
R1	T1	T2	T3	T4	2m
R2	T4	T3	T2	T1	
R3	T2	T4	T1	T3	

Parcela experimental

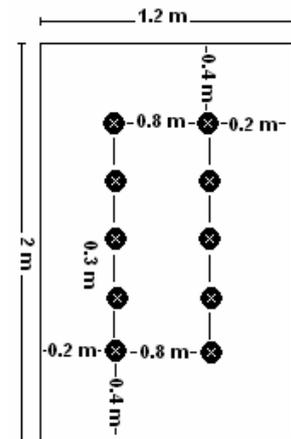


○ = Bolsa de sustrato
 X X = Tallos sembrados

Figura 3. Distribución tratamientos en campo



Área experimental



Parcela experimental

3.6.3 Identificación del mejor antagonista. Para el mejor tratamiento obtenido se realizó una caracterización morfológica teniendo en cuenta las estructuras macro y microscópicas, la disposición y forma de sus conidióforos filiales, y su color de las colonias.⁵²

⁵² ALEXOPOLUS, Op. cit., p. 39

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 AISLAMIENTO DE *Trichoderma sp*

Del muestreo realizado en las zonas cebolleras en el Departamento de Nariño se obtuvieron en laboratorio siete cepas de *Trichoderma sp.* distribuidas de la siguiente manera (Cuadro 1).

Cuadro 1. **Cepas de *Trichoderma sp*, obtenidas en diferentes zonas cebolleras del departamento de Nariño.**

Tratamiento	Municipio	Vereda
T1	Pasto	La laguna
T2	Pasto	Buesaquillo
T3	Potosí	Potosí
T4	Potosí	Potosí
T5	Pasto	Laguna
T6	Potosí	Purbuntud
T7	Pasto	Encano

Figura 4. **Crecimiento micelial *Trichoderma* aislado y purificado, en medio de cultivo PDA.**



En la figura se observa el crecimiento micelial de *Trichoderma sp* (T7 Encano), después de ser sometido a proceso de purificación en laboratorio; se presenta un micelio blanco y posteriormente verde característico del hongo en sus primeros estados de su desarrollo.⁵³

Figura 5. **Crecimiento micelial *Trichoderma sp*, en medio de cultivo PDA con 8 días de desarrollo**

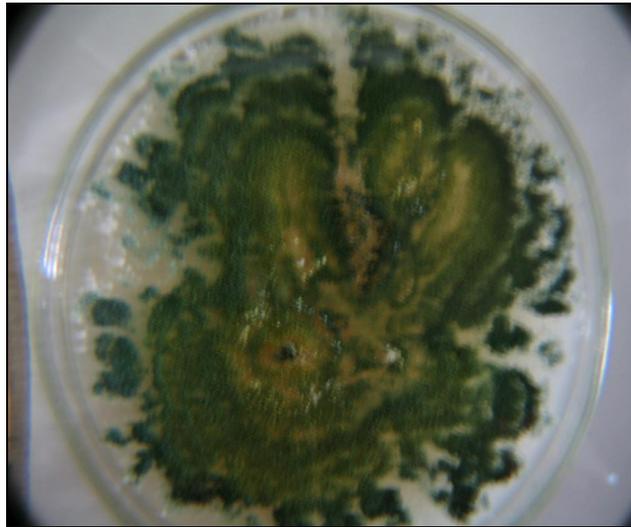


En la figura, micelio de *Trichoderma sp.* T2 (Buesaquillo) con mayor tiempo de madurez, comienza a tomar la tonalidad verde característica.⁵⁴

⁵³ARBELAEZ, Op. cit., p. 31.

⁵⁴ ARBELAEZ, Op. cit., p.31.

Figura 6. **Crecimiento micelial de *Trichoderma* en medio de cultivo PDA con 15 días de desarrollo**



En la figura características macroscópicas con coloración verde difundida en toda la colonia de *Trichoderma sp.* T2 (Buesaquillo) en un alto estado de desarrollo de esporulación.⁵⁵

4.2 ANTAGONISMO *In Vitro* FASE LABORATORIO

4.2.1 Crecimiento micelial hasta el encuentro. El crecimiento micelial de *Trichoderma sp.* no presentó diferencias estadísticas significativas entre los aislamientos de cada municipio; En el anexo A, aparece el análisis de varianza para los tratamientos evaluados.

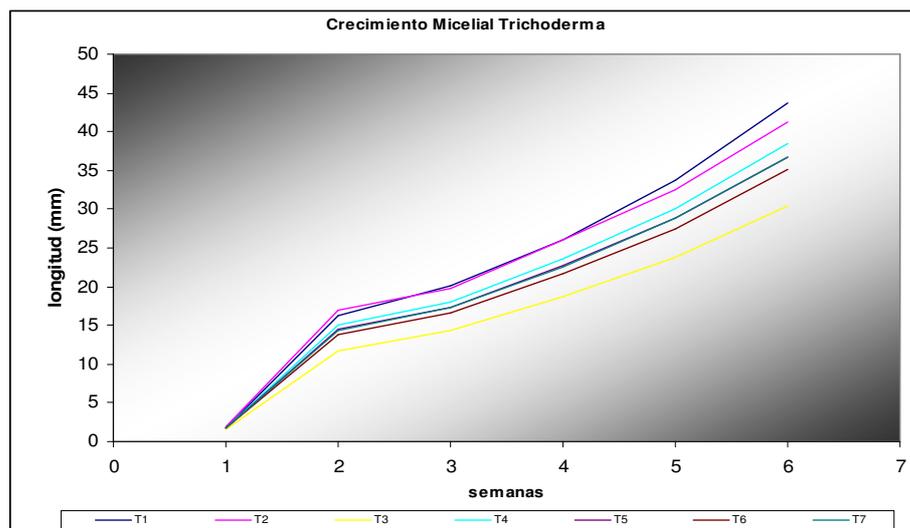
⁵⁵SAÑUDO, Op. cit., p.31.

Figura 7. **Antagonismo** *Trichoderma sp.* con *Fusarium oxysporum*



En la figura se observa antagonismo y crecimiento micelial de *Trichoderma* frente a *Fusarium oxysporum* en el momento del encuentro.

Grafica1. **Crecimiento micelial de *Trichoderma sp.*, antes del crecimiento con *Fusarium oxysporum* en fase In Vitro.**



En la grafica las curvas indican el crecimiento micelial de *Trichoderma* hasta el momento de encuentro, los tratamientos evaluados T1 (La Laguna), T2 (Buesaquillo), T3 (Potosí), T4 (Potosí), T5 (La Laguna), T6 (Purbuntud), T7 (El Encano), presentaron crecimiento similar. En esta fase no hay aún mecanismo de reconocimiento específico frente al patógeno de ello que el comportamiento sea parecido .

Lo anterior se debe a que los hongos del género *Trichoderma* presentan crecimiento quimiotrófico donde exudados del patógeno atraen al hongo. Y permiten que su crecimiento inicial sea constante sin embargo en etapas iniciales de crecimiento no hay aún especificidad frente a patógenos.⁵⁶

Por otra parte hongos con propiedades antagónicas, parasitismo, antibiosis y otras. controlan la magnitud de otra población pero sin llegar a extinguirla al existir pequeñas cantidades iniciales de inóculo; sin embargo, cuando se introduce inóculos en gran cantidad, pueden contrarrestar de manera promisorio los patógenos Deacon, (1990),⁵⁷ Sañudo *et al.*, (1994).⁵⁸

4.2.2 Longitud de invasión de *Trichoderma sp*, después del encuentro. Para la longitud de invasión de *Trichoderma sp*, frente a *Fusarium oxysporum* después de su punto de encuentro se obtuvieron diferencias estadísticas significativas; como se registran en análisis de varianza, Anexo B.

Al comparar los promedios de longitud de invasión en mm, y utilizando prueba de Tukey, como se observa en el Cuadro 2, se determinó que los aislamientos T1, T3, T4, T5, T6, T7 no mostraron diferencias significativas entre sí, a diferencia del aislamiento T2 que presentó diferencias significativas en relación a los tratamientos anteriores, manifestando mayor eficiencia antagónica frente al patógeno.

⁵⁶ HARMAN, G.E. *Trichoderma sp.*, including *T. harzianum*, *T. viridae*, *T. koningi*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, moniliales (asexual classification <http://www.birdhybrids.com/t-22.html>, 2001).

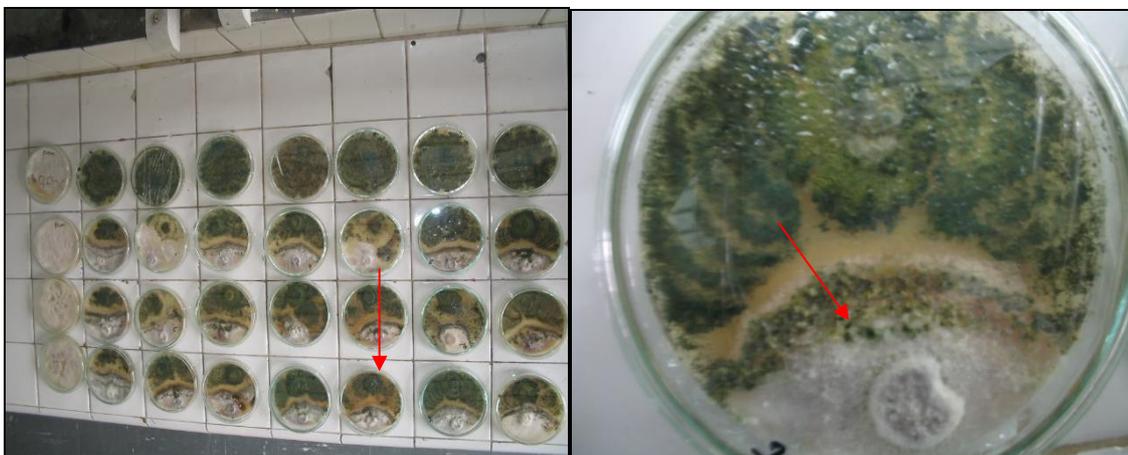
⁵⁷ DEACON, J. Introducción a la micología moderna. Editorial Limusa. México. 1990, p. 350

⁵⁸ SAÑUDO, Op. cit., p. 41.

Cuadro 2. Comparación de los promedios de longitud de invasión *In vitro* dada en mm, utilizando prueba de Tukey

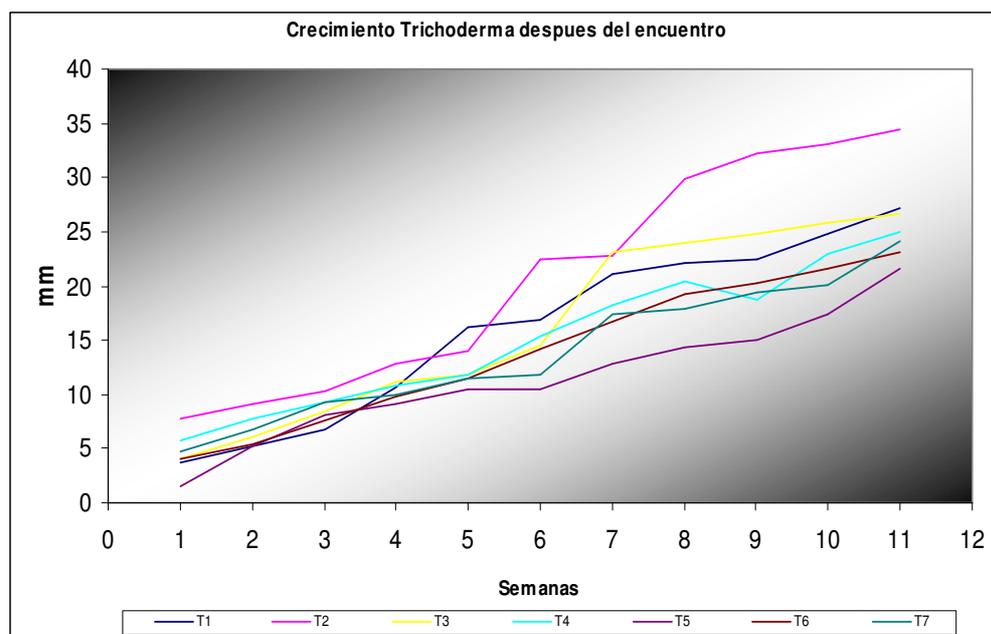
Tratamiento	Media	Agrupación Tukey
2	34.367	A
1	27.100	B
3	26.633	B
4	24.967	B
7	24.100	B
6	23.100	B
5	21.667	B
Tukey 95% 3.78		

Figura 8. Antagonismo de *Trichoderma sp.* frente a *Fusarium oxysporum* después del encuentro



Se observa en la figura, invasión de micelio de *Trichoderma sp* (T2), sobre *Fusarium oxysporum* se observa la invasión sobre el patógeno por parte del antagonístico.

Grafica 2. **Crecimiento micelial de *Trichoderma sp*, después del encuentro con *Fusarium oxysporum* en fase In Vitro.**



En la grafica 2, longitud de invasión de *Trichoderma sp*, después del encuentro, se observa la eficiencia de T2(Buesaquillo) en relación a los demás tratamientos evaluados. A diferencia de la grafica 1 hay mayor invasión por el antagonista, presentandose como especifico frente al patógeno.

Este comportamiento se presenta por mecanismo de **reconocimiento**, donde algunos aislamientos de *Trichoderma sp* son específicos a fitopatógenos, es en esta etapa donde el fenómeno de especificidad de ataque se define, para llegar a proceso de **adhesión** donde una vez *Trichoderma* reconoce al patógeno, lo envuelve y se adhiere a las hifas cubriéndolo totalmente.⁵⁹

Dicho comportamiento coincide con Díaz (2002), cuando *Trichoderma sp*, al parasitar a *Sclerotium cepivorum* patógeno causante de la pudrición blanca en ajo

⁵⁹ HARMAN, Op. cit., p. 49.

(*Allium sativum*), determinó que la cepas muestran diferente eficiencia parasitaria (12.4 – 51.1%), se demuestra la posibilidad de que correspondan a distintos tipos genéticos específicos para patógenos.⁶⁰

Muchos de estos microorganismos tienen la capacidad de producir antibióticos en cultivos puros, lo cual es la más fuerte evidencia de la posible acción de este tipo de compuestos como mecanismo de ataque de *Trichoderma sp*; sin embargo para este hongo en particular la producción de metabolitos está fuertemente ligada a la producción de enzimas propias del proceso de micoparasitismo.⁶¹

Además este comportamiento se presenta por las posibilidades parasitarias del micelio de *Trichoderma sp*, sobre el de *Sclerotium cepivorum*, que son diferentes de acuerdo con la especie del antagonico, diferencias que se expresan como la tolerancia a productos metabólicos secundarios (factores de envejecimiento) producidos por *Sclerotium cepivorum* y quizá la capacidad de tolerar niveles bajos de nutrientes, características que se demuestran por la capacidad de crecer a través de agar previamente colonizado.⁶²

4.3 ANTAGONISMO EN INVERNADERO

4.3.1 Crecimiento Vegetativo. El crecimiento de las plantas hasta la cuarta semana fue similar, en el análisis de varianza para la **cuarta semana**, no se obtuvieron diferencias significativas como se observa en el Anexo C; mientras que para la **semana ocho** se obtuvieron diferencias significativas(ver Anexo D), al realizar prueba de Tukey (Cuadro 3), los tratamientos se comportan similarmente presentando el testigo la menor media, situación que se presenta por la cantidad inicial baja de inóculo, razón por la cual el desarrollo es similar para los

⁶⁰ DIAS, J. VELÁSQUEZ, G. Atagonismo de aislamientos de *Trichoderma sp* sobre hongo *Sclerotium cepivorum* Berk. causante de la pudricion balnca en ajo (*Allium sativum* L.) Municipio de Pasto – Colombia. 2002. p 73. Trabajo de Grado para optar al título (Biólogo con énfasis en Microbiología) Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas.

⁶¹ TROSNO, A. y GORDON, L. Biological control with *Trichoderma* species. Ed. Marcel Dekker.1998, 442 p.

⁶² DEACON, Op. cit., p. 50.

tratamientos, sin embargo esta situación cambia con el transcurrir del tiempo como se observa mas adelante.

En comparación de las anteriores situaciones para la **semana doce** se encontró diferencias altamente significativas en su ANDEVA (ver Anexo E). Al comparar los tratamientos mediante prueba de Tukey, se encontró que los tratamientos T1, T2, T3 difieren con respecto al testigo (T4) ver Cuadro No4.

Cuadro 3. Comparación promedios crecimiento de planta dada en centímetros para semana ocho (en invernadero), utilizando prueba de Tukey

Tratamiento	Media	Agrupación Tukey
1 (1X10 ⁶)	45.813	A
3 Comercial)	45.240	A
2 (6X10 ⁶)	44.853	A
4 (Testigo)	39.507	A
Tukey 95 % 8.213		

Cuadro 4. Comparación promedios de crecimiento de planta dada en centímetros para semana doce (en invernadero), utilizando prueba de Tukey

Tratamiento	Media	Agrupación Tukey
1 (1X10 ⁶)	55.940	A
3 (Comercial)	55.840	A
2 (6X10 ⁶)	55.453	A
4 (Testigo)	40.880	B
Tukey 95 % 8.404		

Figura 9. Desarrollo de plantas en invernadero



En la figura se observa la diferencia del crecimiento vegetativo de las plantas tratadas con *Trichoderma sp*, frente al testigo.

Estos resultados se deben al bajo inóculo inicial y permite que el crecimiento vegetativo de la planta sea similar en todos los casos, cuando la cantidad de inóculo patógeno se incrementa con respecto al tiempo retrasa el crecimiento en la planta por su acción patogénica en las raíces (Agrios 2002).⁶³ Además hongos del género *Trichoderma sp*, cuyas especies aisladas frecuentemente de suelos agrícolas presentan un efecto antagónico sobre hongos fitopatógenos ya sea por competencia, producción de antibióticos o parasitismo; permiten el crecimiento normal de la planta (Sañudo *et al.*, 2001).⁶⁴

Fusarium oxysporum produce un moho blanquecino formado por el micelio y esporas del hongo que pudre las raíces de la base del tallo; *Trichoderma* impide desarrollo de estas estructuras mediante mecanismo de micoparasitismo produciendo enzimas que incluyen endoquitinasas, proteasas, glucosidasas capaces de hidrolizar las paredes celulares del hongo patógeno logrando así, controlar la enfermedad.(Harman, 2001).⁶⁵

⁶³ AGRIOS, Op. cit., p.36.

⁶⁴ SAÑUDO, Op. cit., p.31.

⁶⁵ HARMAN, Op. cit., p. 49.

Además, la enfermedad es más frecuente en plantas adultas presentándose amarillamiento de las hojas inferiores, formación ocasional de raíces adventicias, marchitamiento de hojas y tallos jóvenes, defoliación, necrosis marginal y finalmente la muerte (Ortega, 2004).⁶⁶

4.3.2 Incidencia. Para la evaluación de incidencia, el Análisis de Varianza de los tratamientos T1, T2, T3, T4 mostró diferencias significativas (Ver Anexo F) mediante prueba de Tukey, como se observa en el cuadro 5, se determinó que los tratamientos T1, T2, T3 se comportan de manera similar manifestando eficiencia antagonica frente al patógeno, a diferencia del testigo T4.

Cuadro 5. Comparación promedios para incidencia (en invernadero), utilizando prueba de Tukey

Tratamiento	Media	Agrupación Tukey
4 (Testigo)	96.8	A
1 (1×10^6)	30.08	B
2 (6×10^6)	29.47	B
3 (Comercial)	28.59	B
Tukey 95 % 8.31		

Los tratamientos T1, T2 T3 se vieron favorecidos por la acción de Trichoderma que secreta enzimas (celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas) que ayudan a disolver la pared celular de las hifas del huésped, facilitando la inserción de estructuras especializadas y el micelio de Trichoderma, absorbiendo los nutrientes del interior del hongo huésped. Al final el micelio del hongo parasitado queda vacío y con perforaciones, provocadas por la inserción de las estructuras especializadas de Trichoderma, controlando la enfermedad.⁶⁷

⁶⁶ ORTEGA, Op. cit., p. 21.

⁶⁷ INFOAGRO. Op. cit., p.34.

4.3.3 Longitud de raíces. Para la variable longitud de raíces en el Análisis de Varianza los tratamientos mostraron diferencias significativas como se observa en el Anexo G, donde la longitud de raíces en prueba de invernadero difiere para cada tratamiento (Figura 10).

Al comparar los promedios de longitud de raíces en centímetros, utilizando prueba de Tukey, como se observa en el Cuadro 6, se determinó que los aislamientos T1, T2, T3, se comportan de manera independiente con relación al testigo T4.

Cuadro 6. **Comparación promedios de longitud de raíces en invernadero dada en centímetros, utilizando prueba de Tukey**

Tratamiento	Media	Agrupación Tukey
2 (6×10^6)	29.033	A
1 (1×10^6)	25.167	B
3 (Comercial)	19.300	C
4 (Testigo)	7.113	D
Tukey 95 % 3.741		

Figura 10. **Longitud de raíces de cuatro tratamientos en invernadero**



Se observa en la figura la longitud radical de plantas por acción de los tratamientos, siendo estos superiores en relación al testigo.

Este comportamiento longitudinal de raíz se presentó por la diferencia en cantidad de inóculo aplicado en cada tratamiento, puesto que a medida que se introduce inóculos en gran cantidad, pueden contrarrestar con mayor eficiencia los patógenos, por lo tanto la cantidad de raíces es proporcional a la concentración. (Deacon, 1990.⁶⁸ Sañudo *et al.*, 1994⁶⁹).

T. harzianum coloniza las raíces y activan el crecimiento vegetal y radical, aumenta la resistencia del cultivo frente al ataque de posibles patógenos, disminuyendo la población de patógenos, y aumenta masa y longitud radicular y consecuentemente se obtienen mayores rendimientos, lo que no se consigue con un fungicida convencional (Norabuena, 1993).⁷⁰

Además los dos organismos demandan un mismo recurso vital. La competencia entre el agente antagónico y el fitopatógeno puede resultar en control biológico por aniquilación de la población perjudicial, y puede darse a favor de *Trichoderma sp.* Debido a su alta frecuencia de crecimiento y desarrollo.⁷¹

4.3.4 Materia seca de raíces. Al evaluar los tratamientos T1, T2, T3, T4. En relación a la variable *materia seca en raíces*, se encontró, diferencias estadísticas significativas entre sí, al realizar su análisis de varianza, Anexo H.

En la comparación de los promedios de materia seca, sometido a prueba de Tukey, se determinó que los tratamientos T1, T2, T3, mostraron diferencias significativas con relación al testigo T4; sin embargo los tratamientos T1, T2, T3 no difieren entre sí, cuadro 7.

⁶⁸ DACON. Op. cit., p.50.

⁶⁹ SAÑUDO. Op. cit., p.41.

⁷⁰ NORABUENA, M. Control biológico y agricultura sustentable. IPA, Carrillanca, 12(2), 1993

⁷¹ TROSNO, Op. cit., p. 53.

Cuadro 7. Comparación promedios materia seca de raíces en invernadero, utilizando prueba de Tukey

Tratamiento	Media	Agrupación Tukey
2 (6X10 ⁶)	60.243	A
3 (Comercial)	59.037	A
1 (1X10 ⁶)	55.880	A
4 (Testigo)	29.887	B
Tukey 95 % 11.539		

Se ha comprobado que *Trichoderma* produce sustancias estimuladoras del crecimiento y desarrollo de las plantas. Estas sustancias actúan como catalizadores o aceleradores de los tejidos de éstas, acelerando su reproducción celular, logrando que las plantas alcancen un desarrollo mas rápido que aquellas plantas que no hayan sido tratadas con dicho microorganismo.⁷²

Sin embargo, para lograr una competencia efectiva, es necesario que *Trichoderma* colonice el sustrato primero, y al mismo tiempo al patógeno. La competencia a nivel del sistema radical se produce por las secreciones de importantes cantidades de nutrientes de las raíces, en activo crecimiento para hongos del suelo.⁷³

Los hongos pertenecientes a este género activan el crecimiento vegetal y sobretodo radicular, y aumentan la resistencia del cultivo frente al ataque de posibles patógenos, favorecen el crecimiento de la planta, le ofrecen un mayor vigor germinativo a las semillas, un mejor desarrollo de la raíz y una mejor expresión fenotípica.⁷⁴

⁷² AGRIOS. Op. cit., p.32.

⁷³ INFOAGRO. Op. cit., p.34.

⁷⁴ VILLEGAS E, Bernardo y CASTAÑO Z, Jairo. Identificación de aislamientos promisorios de *Trichoderma* sp. Para el control de *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) Schrbeter, causante de la pudrición de la corona y raíz del manzano (*Mallus domestica* Borkh.) en Caldas. En: Fitopatología. No. 32. Octubre, 1999.

4.4 ANTAGONISMO EN CAMPO

4.4.1 Incidencia después de la aparición de síntomas. Para la variable incidencia; los tratamientos T1, T2, T3, T4 en el análisis de varianza no mostraron diferencias significativas como se observa en el Anexo I, que indica similar comportamiento en los tratamientos, no se obtuvieron resultados favorables.

Figura 11. Prueba en campo



En la figura, síntomas característicos de la enfermedad a nivel de campo, se observa el amarillamiento de las hojas.

El suelo del ensayo experimental fue de estructura arcillosa, con bajo nivel de materia orgánica y no presentó buena aireación, por ende baja disponibilidad de nutrientes, condiciones desfavorables para un buen comportamiento del antagonista. Este hongo se alimenta de nitrógeno, fósforo, potasio y microelementos para su buen desarrollo.⁷⁵

⁷⁵ INFOAGRO, Op. cit., p.34.

Se observó disminución en el periodo de incubación de la enfermedad. El uso de *Trichoderma harzianum* como agente de biocontrol es preventivo, ya que si todavía no existe ataque, la planta está preparada y protegida para impedir la infección fúngica, y si ésta se ha producido ya, la acción del hongo *Trichoderma* proporciona a la planta una ayuda fundamental para superar dicha infección, llegando a controlarla (WAINWRIGTH, 1995).⁷⁶

4.4.2 Longitud de raíces. Para la variable longitud de raíces en campo, el análisis de varianza de los tratamientos mostró diferencias significativas como se observa en el Anexo J. Al comparar los promedios de longitud de raíces en centímetros, utilizando prueba de Tukey, como se observa en el Cuadro 8, se determinó que los aislamientos T1, T2, T3, T4 se comportan de manera similar.

Cuadro 8. Comparación promedios de longitud de raíces en campo dada en centímetros, utilizando prueba de Tukey

Tratamiento	Media	Agrupación Tukey
3 (Comercial)	27.897	A
1 (1X10 ⁶)	27.680	A
2 (6X10 ⁶)	27.207	A
4 (Testigo)	21.810	A
Tukey 95 % 15.308		

⁷⁶WAINWRIGTH, M. *Biología de hongos*. Primera edición, editorial Acribia. España. 228 p. 1995.

Figura 12. Longitud de raíces en prueba de campo



En la figura no se observa ninguna diferencia con respecto a longitud de raíz entre los tratamientos aplicados.

Este comportamiento longitudinal de raíz se presentó por las condiciones adversas, que no favorecieron el desarrollo del antagonista para lograr un resultado eficiente, esto se vio influenciado por las condiciones climáticas presentadas en el periodo de evaluación en campo; el déficit hídrico y la baja cantidad de materia orgánica del suelo hacen que *Trichoderma sp* no se desarrolle eficientemente para contrarrestar la enfermedad, mientras que la alta concentración de inóculo del patógeno en el suelo permite que este sobreviva, logrando así el desarrollo de la enfermedad en la planta.

La cantidad de inóculo aplicado en cada tratamiento, contrarresta el desarrollo del patógeno, siempre que existan las condiciones favorables para el antagonista (Deacon, 1990;⁷⁷ Sañudo *et al.*, 1994).⁷⁸

⁷⁷ DEACON, Op. cit., p.50.

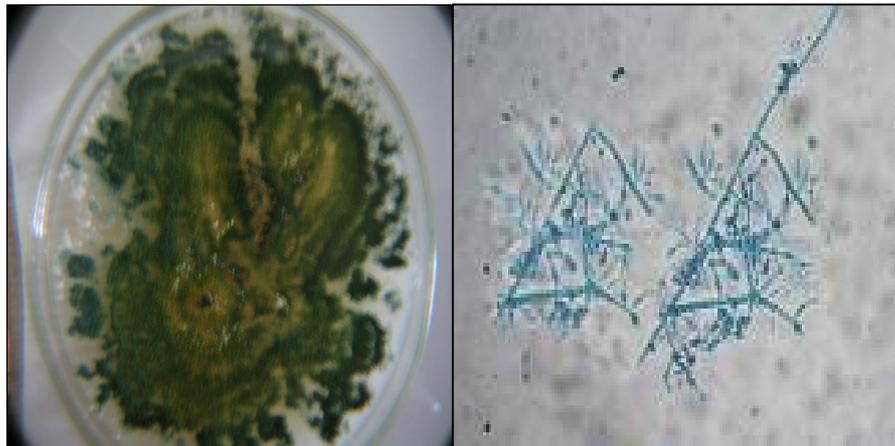
⁷⁸ SAÑUDO, Op. cit., p.41.

4.5 Descripción morfológica

4.5.1 Características macroscópicas. colonia de crecimiento rápido, con micelio plano y denso. Presenta una esporulación verde difundida en toda la colonia. Su reverso es incoloro, aroma semejante a coco.

4.5.2 Características microscópicas. Presenta conidióforos delgados con ramas primarias que sostienen fiálides individuales y apiñadas (Alexopolus, 1996).⁷⁹

Figura 13 Tratamiento T2



En la figura características de la cepa T2 (Buesaquillo)

⁷⁹ ALEXOPOLUS, Op. cit., p.39.

5. CONCLUSIONES

De las siete cepas de *Trichoderma sp*, obtenidas en fase de laboratorio, la cepa T2 presento la mayor longitud de invasión frente a *Fusarium oxysporum* después del momento de encuentro, siendo así el mejor antagonista en fase *In vitro*.

La cepa T2 de *Trichoderma* en las dos concentraciones probadas (1×10^6 , 6×10^6), resulto ser buen antagonista frente a *Fusarium oxysporum* controlando la enfermedad a nivel de invernadero.

El desempeño de la cepa T2 de *Trichoderma*, en campo no fue eficiente, posiblemente a condiciones ambientales desfavorables para su óptimo desarrollo que permita contrarrestar la enfermedad.

6. RECOMENDACIONES

Evaluar detalladamente la cepa T2 de *Trichoderma sp.* en diferentes concentraciones llevada a campo.

Efectuar evaluaciones de *Trichoderma* con diferentes cantidades de materia orgánica y su relación directa con incidencia de la enfermedad.

Evaluar aplicaciones de *Trichoderma* en el ciclo de cultivo siembra - cosecha para determinar el momento ideal de aplicación.

Efectuar evaluaciones de *Trichoderma* mezclado con otros agentes biocontroladores frente a *Fusarium oxysporum*.

BIBLIOGRAFIA

AGRIOS, G. Fitopatología. México: Limusa .2002, 836p.

AGRIOS, G. Fitopatología. México: Limusa. 2004, 850p.

ALEXOPOLUS, C.J, MIM, C, W y BLACKWELL, M. Instructory miclology. New York: Willey y Sons, 1996, 378p.

ANIVIES. Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de Educación Superior. Avances y Perspectivas. [www.hemerotecadigital.unam. Mz / ANVIES .html](http://www.hemerotecadigital.unam.mx/ANVIES.html). Julio-Agosto, 1998.

ARBELAEZ, G. ARCOS, O. ELIAS, R. Estudio De Antagonismo De Algunas Especies De Trichodermas Aislados De Suelos Colombianos En El Control De Fusarium oxisporum y Rhizoctonia solani. Agronomía Colombiana, Vol. 10 No 1, 1993.

BUITRAGO, J. DUARTE, C. y SARMIENTO, A. El cultivo de la arveja en Colombia, Fenalce. Bogota, Colombia: Produmedios. 2006, 102p.

CALLOW, J. Recognitong, resistance and the role of plant lectinsing hostparasite interaction. In: Advances in botanical research. 4.1992. 99p.

CASTRO, A. y RIVILLAS, C. Validación del antagonismo de Trichoderma harzianum sobre Rhizoctonia solani en germinadores de café. Chinchiná, Colombia:CENICAFE. 2007, 74p.

CORPOICA. Novedades Técnicas, Revista Regional. 2002. No 1 junio.

CORPOICA. El cultivo del ajo y las cebollas en Colombia. Bogota, Colombia: Corpoica. 1996,114p.

CONTROL BIOLÓGICO. Biocontrol, el control biológico protege al hombre y sus productos. ww.controlbiologico.com/monog.trichoderma.htm. Mayo 2005.

COLLAZOS, F. Paquete de capacitación en postcosecha y comercialización de cebolla de rama. Bogota, Colombia: sena. 1998, 294p.

COOK, J.R. y BAKER, K.F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul, Minnesota. APS Press 1983. 539p.

DEACON, J.W. Introducción a la micología moderna. Editorial Limusa. México.1990, p. 350.

DIAZ Jenny y VELÁSQUEZ Genie. Antagonismo de aislamientos de *Trichoderma* sp. sobre el hongo *Sclerotium cepivorum* berk. causante de la pudrición blanca en ajo (*Allium sativum* L.). Municipio de Pasto – Colombia. 2002. p 73. Trabajo de Grado para optar el título (Biólogo con énfasis en Microbiología) Universidad de Nariño, facultad de ciencias naturales y matemáticas.

HARMAN, G.E. *Trichoderma* sp., including *T. harzianum*, *T. viridae*, *T. koningi*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, moniliales (asexual classification <http://www.birdhybrids.com/t-22.html>, 2001.

HERRERA, A y CORSOLI, C. Medioambiente, Control Biológico Y Hongos Parásitos Y Perspectivas. 1998 No 17. p. 195-204.

INFOAGRO. Microorganismos de Suelo benéficos para los cultivos. www.infoagro.com/hortalizas_beneficiosos_cultivos.html, Octubre 2005.

LEGUIZAMON, C. J. y BARRIGA, C. R. Enfermedades del ajo (*Allium sativum* L.) en Cundinamarca y Boyacá. En: Noticias Fitopatológicas. Colombia: 1981. 3 (1): 4 -19.

LOBO, A. y GIRARD, O. Algunos aspectos sobre el cultivo de la cebolla de rama. En. Curso sobre hortalizas, Instituto Colombiano Agropecuario. Compendio numero 21, 1997. p 41-54.

LOPEZ, A. El cultivo del Ajo y de las Cebollas en Colombia. Bogota, Colombia: Produmedios. 1996, 114 p.

MADIGAN, B. Biología de Los Microorganismos. Mexico:Brock. 1998, 478p.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL GOBERNACION DE NARIÑO, SECRETARIA DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE. Consolidado agropecuario, 2004.76p.

NORABUENA,M. Control biológico y agricultura sustentable. IPA, Carrillanca, 12(2), 1993.

ORTEGA, J. Caracterización del complejo hongo-acaro causante del secamiento de la cebolla junca (*Allium fistulosum*) en el corregimiento de Buesaquillo municipio de Pasto. Colombia. 2004. p 60. Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título (Ing. Agrónomo) Universidad de Nariño Facultad de Ciencias Agrícolas.

OSORIO, B. Generalidades de la producción de hortalizas en Colombia. En Primer Curso Nacional de Hortalizas de Clima frío. Mosquera, Colombia: ICA. 1992 p 5-21.

PEREZ, M y FLOREZ, C. respuesta de la cebolla (*Allium fistulosum* L.) a la fertilización química y orgánica en el suelo del Encano, Municipio de Pasto. Colombia. 1990. p 60. Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar el título (Ing. Agrónomo) Universidad de Nariño Facultad de Ciencias Agrícolas.

TRABANINO, Rogelio; KUNIYOSHI, Claudia; MICHEL, Marco. Manual de agentes de control biológico. Centro de control biológico para Centroamérica. Honduras, El Zamorano.2003.

TROSNO, A. y GORDON, L.. Biological control with *Trichoderma* species. Ed. Marcel Dekker.1998, 442 p.

REVFACARGRONLUZ. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* Sp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. www.revfacargronluz.org.ve/v16_5/v165z006.htm. Marzo-Abril 2005.

ROLLÁN, M., MÓNACO, C. LAMPUGNANI, G. y ARTETA, N. Variación de la población de hongos antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum* en el suelo por la aplicación de agroquímicos, en Primer Congreso Argentino de Control Biológico de enfermedades de plantas. Acta de resúmenes. Universidad de Buenos Aires, Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Buenos Aires, Argentina. 1998. p.27.

SAÑUDO, B. ARTEAGA, M. Y VALLEJO, W. Fundamentos de micología Agrícola. Pasto, Colombia: Editorial Universitaria. 2001, 201p.

SAÑUDO, B. CASTILLO, G. Y RAMIREZ, B. Principios de control biológico de fitopatógenos. Pasto, Colombia: UDENAR. 1994, 198p.

VILLEGAS E, Bernardo y CASTAÑO Z, Jairo. Identificación de aislamientos promisorios de *Trichoderma* sp. para el control de *Phytophthora cactorum* (Lebert

& Cohn Schrbeter), causante de la pudrición de la corona y raíz del manzano (*Mallus domestica* Borkh.) en Caldas. En: Fitopatología. No. 32. Octubre, 1999.

WAINWRIGTH, M. Biotecnología de hongos. Primera edición. España editorial Acribia. 1995. p.228

ANEXOS

Anexo A. Análisis de varianza para crecimiento micelial hasta el encuentro de *Trichoderma* con *Fusarium oxysporum*.

FV	GL	SC	CM	FC	Ft
Tratamiento	6	960.52	160.08	1.57 ns	2.85
Error	14	1421.54	101.5		
Total	20	2382.06			

ns: No significativo

Anexo B. Análisis de varianza longitud de invasión de Trichoderma después del encuentro

FV	GL	SC	CM	FC	Ft
Tratamiento	6	310.4	51.7	12.95 *	2.85
Error	14	55.9	3.99		
Total	20	366.3			

* : Significativo (0.05)

Anexo C. Análisis de varianza crecimiento cuarta semana en invernadero

FV	GL	SC	CM	FC	Ft
Tratamiento	3	6.9408	2.3136	0.27 ns	0.84
Error	8	67.3914	8.4239		
Total	11	74.3322			

ns: No significativo

Anexo D. Análisis de varianza crecimiento octava semana en invernadero

FV	GL	SC	CM	FC	Ft
Tratamiento	3	76.9738	25.657	2.60 *	0.12
Error	8	78.9432	9.867		
Total	11	155.917			

*: Significativo (0.05)

Anexo E. Análisis de varianza crecimiento semana doce en invernadero

FV	GL	SC	CM	FC	Ft
Tratamiento	3	497.537	165.845	16.05 *	0.0010
Error	8	82.653	10.331		
Total	11	580.190			

*: Significativo (0.05)

Anexo F. Análisis de varianza para incidencia fase invernadero

FV	GL	SC	CM	FC	Ft
Tratamiento	3	0.0024	0.00082	1.22 *	0.3630
Error	8	0.0054	0.00067		
Total	11	0.0078			

*: Significativo (0.05)

Anexo G. Análisis de varianza longitud de raíces fase invernadero

FV	GL	SC	CM	FC	Ft
Tratamiento	3	822.709	274.236	133.94 *	4.04
Error	8	16.380	2.074		
Total	11	839.089			

*: Significativo (0.05)

Anexo H. Análisis de varianza materia seca de raíces en invernadero

FV	GL	SC	CM	FC	Ft
Tratamiento	3	1858.0217	619.3405	31.80 *	4.04
Error	8	155.7972	19.4746		
Total	11	2013.8189			

* : Significativo (0.05)

Anexo I. Análisis de varianza incidencia después de la aparición de síntomas en campo

FV	GL	SC	CM	FC	Ft
Bloque	2	950.0	475.0	4.38 *	0.067
Tratamiento	3	200.0	66.66	0.62 ns	0.629
Error	6	650.0	108.33		
Total	11	1800.0			

* : Significativo (0.05)

ns : No significativo

Anexo J. Análisis de varianza longitud de raíces en prueba de campo

FV	GL	SC	CM	FC	Ft
Bloque	2	88.610	44.305	1.51 *	0.294
Tratamiento	3	76.031	25.343	0.86 *	0.509
Error	6	175.984	29.330		
Total	11	340.626			

*: Significativo (0.05)