

**EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. PARA EL MANEJO DEL
AMARILLAMIENTO DE ARVEJA (*Pisum sativum* L.) CAUSADO POR
Fusarium oxysporum. EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.**

**CHRISTIAN DAVID ERASO INSUASTY
JAIRO ALEXANDER ACOSTA RODRIGUEZ**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA INGENIERÍA AGRONÓMICA
SAN JUAN DE PASTO**

2013

**EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. PARA EL MANEJO DEL
AMARILLAMIENTO DE ARVEJA (*Pisum sativum* L.) CAUSADO POR
Fusarium oxysporum. EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.**

**CHRISTIAN DAVID ERASO INSUASTY
JAIRO ALEXANDER ACOSTA RODRIGUEZ**

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

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA INGENIERÍA AGRONÓMICA
SAN JUAN DE PASTO**

2013

NOTA DE RESPONSABILIDAD

Las ideas y conclusiones aportadas en el siguiente trabajo son responsabilidad exclusiva del autor.

Artículo 1^o del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966 emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

Firma del Presidente de tesis

Firma del jurado

Firma del jurado

San Juan de Pasto, Febrero de 2013

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN	7
MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
CONCLUSIONES	21
BIBLIOGRAFÍA	22

**EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. PARA EL MANEJO DEL
AMARILLAMIENTO DE ARVEJA (*Pisum sativum* L.) CAUSADO POR
Fusarium oxysporum. EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.**

**CHRISTIAN DAVID ERASO INSUASTY
JAIRO ALEXANDER ACOSTA RODRIGUEZ**

RESUMEN

El amarillamiento de arveja causado por el hongo *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*. es considerada la enfermedad más limitante en este cultivo. El objetivo del presente estudio fue contribuir a su manejo, a través de la evaluación de 21 cepas de *Trichoderma* spp. El trabajo se desarrolló en el laboratorio de sanidad vegetal e invernadero de la Universidad de Nariño, la fase de campo se estableció en la granja experimental Botana. Se obtuvieron plantas de arveja con sintomatología característica de esta enfermedad para el aislamiento de *Fusarium*, y las cepas de *Trichoderma* se obtuvieron de la rizosfera de plantas sanas colectadas en los municipios de Potosí, Córdoba, Gualmatán, Ipiales y Puerres, además se trabajó con una cepa comercial de laboratorio Perkins. En la fase de laboratorio, se utilizó un diseño irrestrictamente al azar con 21 cepas. Se hicieron siembras duales y las variables evaluadas fueron crecimiento micelial y halo de inhibición; que sirvieron como criterio de selección para la fase de invernadero. En esta fase se evaluó altura de planta, longitud de raíces, materia seca de raíces y porcentaje de incidencia. Posteriormente, las mejores cepas de la fase de invernadero, se evaluaron en campo bajo un diseño de bloques completamente al azar, teniendo en cuenta componentes de rendimiento, altura de planta y longitud de raíz. En la fase de laboratorio se seleccionaron a C2 (Córdoba 2), C7 (Gualmatan 3), C14 (Puerres 2), C20 (Potosí 4) y C21 (Lab. Perkins) por presentar mejores resultados; seguidamente en invernadero los tratamientos C7, C14 y C21 se destacaron positivamente; por último en la fase de campo se obtuvo diferencias significativas entre C14 (Puerres 2) y C21 (Lab. Perkins) con respecto a los tratamientos C7 y Testigo. Los resultados obtenidos demuestran la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. especialmente las cepas C14 y C21 en el manejo del hongo *Fusarium oxysporum* en arveja.

Palabras Claves: Control biológico, Patógenos de suelo, Hongos antagónicos.

ABSTRACT

The yellowing of pea caused by fungus *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*, is considered a limiting illness for this crop. The aim of this study was to contribute to its management, through the evaluation of *Trichoderma* spp. strains. This study took place at the plant health laboratory and greenhouse of the “Universidad de Nariño”, and the experimental stage was conducted at the “Granja experimental Botana”. Symptomatic plants from places affected by yellowing were collected for *Fusarium* isolation. *Trichoderma* strains were obtained from rhizosphere of healthy plants collected in the cities of Potosí, Córdoba, Gualmatán, Puerres and Ipiales, where work was also carried with one commercial strain of the laboratory Perkins. A design was used in the stage of laboratory, unrestrictedly randomized with 21 treatments. Dual clashes were made of strains from the 4 municipalities and a commercial strain. The variables evaluated were mycelial growth and inhibition zone. Thus, selection criterion was taken in order to choose the treatments that continued in greenhouse, which evaluated plant height, root length, root dry matter and percentage of incidence. Next, the best treatments in the greenhouse stage were evaluated in under a randomized block design; where performance variables were determined, plant height and root length. In the stage of laboratory C2 (Córdoba 2), C7 (Gualmatán 3), C14 (Puerres 2), C20 (Potosí 4) and C21 (Perkins) were selected, in order to present characteristics compared with other treatments. Subsequently C7, C14 and C21 treatments in greenhouse, were positively highlighted. Finally, in the field stage, some differences were obtained with C14 (Puerres 2) and C21 (Perkins) from absolute and C7 treatments. The results demonstrated the antagonistic capacity of *Trichoderma* spp. especially in C14 treatments in the management of *Fusarium oxysporum* of Pea.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de arveja (*Pisum sativum* L.) en Colombia ha sido por varios años el regulador de la economía de pequeños y medianos productores de zonas andinas y su producción se concentra en Cundinamarca, Boyacá, Nariño y Tolima (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2012). La arveja es cultivada en minifundios localizados principalmente en zonas de ladera, con temperaturas promedio entre 12 y 18°C (Nutrimon, 2007). Esta leguminosa se adapta a una gran variedad de suelos que van desde franco arenosos, hasta franco arcillosos, siempre y cuando éstos presenten un buen drenaje (FENALCE, 2012).

En Nariño se cultivan diferentes variedades entre las que sobresalen Andina, Sindamanoy, San Isidro, Piquinegra y Santa Isabel por el área de siembra. En el presente trabajo se utilizó la variedad Santa Isabel que se adapta entre 2400 y 2700 msnm y se cosecha entre

los 115 y 150 días en grano verde y a los 170 días en grano seco. Con un rendimiento comercial en vaina verde que varía desde 4000 a 8000 kg.ha⁻¹ (FENALCE, 2012; Buitrago *et al.*, 2006)

El área cultivada de arveja en Nariño durante el año 2011 fue de 13809 ha, con una producción de 60178 t y un rendimiento de 4,4 t.ha⁻¹ en vaina verde (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2012).

El rendimiento del cultivo puede ser afectado por diferentes problemas fitosanitarios, según Tamayo (2000) la limitante en la producción de arveja en Colombia es la enfermedad denominada marchitez vascular, causada por *Fusarium oxysporum* y en el departamento de Nariño se encuentran afectados los municipios de mayor producción de arveja como: Ipiales, Puerres, Potosí, Córdoba, y Gualmatán (Sañudo *et al.*, 2007).

El hongo ataca diferentes variedades de plantas y es capaz de sobrevivir en los rastrojos de cultivos anteriores y permanecer en el suelo por varios años (Arguello *et al.*, 2007). *Fusarium sp.* crece casi en cualquier grado de humedad del suelo, pero las condiciones muy húmedas reducen su infección por presencia de bacterias anaeróbicas (Ocaña, 2008).

Los síntomas de la enfermedad causada por *Fusarium sp.* generalmente se observan en etapas cercanas a la floración, las plantas son raquílicas, con un amarillamiento blanquecino ascendente, con posterior marchitamiento. En los tejidos internos de las raíces y de la base del tallo, se observa una pudrición seca de coloración rojiza (Sañudo *et al.*, 2007), causada por las toxinas producidas por el hongo, ya que el xilema es obstruido causando la muerte de la planta (Booth, 1971; Nelson, 1983).

La baja eficiencia de productos químicos para el control de esta enfermedad promueve la búsqueda de otras alternativas como el control biológico. Una respuesta positiva es la utilización de microorganismos antagónicos competitivos para proteger los cultivos de patógenos del suelo, en particular especies del género *Trichoderma* han merecido la atención máxima como agente de biocontrol (Rosero, 2008).

Trichoderma es un hongo que se encuentra frecuentemente sobre tejidos vegetales en descomposición. Es un organismo dominante en los suelos, debido a su naturaleza agresiva y su capacidad metabólica para competir con otros microorganismos (Rosero, 2008). Además, *Trichoderma* tiene la capacidad de parasitar a otros hongos lo que se conoce como hiperparasitismo o micoparasitismo de diferentes patógenos de plantas. El modo de acción de *Trichoderma* es complejo e incluye el quimiotaxismo, la antibiosis y el parasitismo (Elósegui, 2006).

El uso del control biológico con *Trichoderma* es considerado como alternativa, debido a que el control químico no es eficiente, pues una vez se manifiestan los síntomas de esta enfermedad no se puede controlar por lo que se hace necesario que el manejo se haga de forma preventiva (Gonzalez *et al.*, 2005). Sin embargo pruebas directas donde se tenga en cuenta la interacción con la planta son relevantes para determinar también la efectividad de un buen aislamiento antagonista (Hoyos, 2009).

En este sentido, se planteó como objetivo del presente trabajo de investigación contribuir al manejo del amarillamiento en arveja (*Pisum sativum* L.) causado por el hongo *Fusarium oxysporum*, a través de la evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. antagónicas al patógeno en condiciones de laboratorio, invernadero y campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el laboratorio de Sanidad Vegetal y en el invernadero de la Universidad de Nariño, a una altitud de 2540 msnm, 01° 12' 13" LN y 77° 15' 23" LO, la fase de campo se estableció en la granja experimental Botana ubicada a una altitud de 2820 msnm, 01° 09' 28" LN y 77° 16' 29" LO, con una temperatura promedio de 13°C.

Teniendo en cuenta las zonas productoras de arveja del sur de Nariño donde se presenta la mayor incidencia de la enfermedad, como son los municipios de Potosí, Córdoba, Gualmatán, Ipiales y Puerres, se procedió a coleccionar plantas con síntomas de amarillamiento, bajo crecimiento y coloración rojiza en los haces vasculares característicos del ataque de *Fusarium oxysporum*. Para el caso de *Trichoderma* se trabajó con una cepa comercial de laboratorios Perkins y cuatro muestras por municipio, tomando suelo de la rizósfera de plantas aparentemente sanas y se depositaron 500g en bolsas de polietileno, para un total de 21 tratamientos. El material se trasladó al laboratorio de la Universidad de Nariño para su análisis y procesamiento.

En el proceso de aislamiento y purificación de *Fusarium oxysporum*, el material vegetal recolectado de los diferentes municipios se lavó con agua corriente, tomando trozos de tejidos de raíz y tallos sintomáticos de tamaño 5x5mm, los cuales durante 2 minutos fueron sometidos a un lavado con agua destilada, luego para desinfectarlos se utilizó una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 1 minuto y se enjuagó en agua destilada durante 1 minuto. Estas muestras de tejido fueron sembradas cada una en cajas Petri con medio de cultivo PDA y se incubó a temperatura ambiente hasta el desarrollo de colonias fungosas (Rojas, 2011), luego se purificó este hongo en el mismo medio escogiendo la cepa más agresiva según su crecimiento micelial que correspondía a la cepa de Potosí.

La identificación del patógeno se realizó siguiendo las claves taxonómicas descritas por Booth (1971), con base en la coloración de colonias y en las estructuras reproductivas como: conidias, macroconidias, clamidosporas y esporodoquios.

Para el aislamiento y purificación de *Trichoderma* spp. se pesaron 10 g de suelo por muestra, se agregó agua destilada estéril hasta 100 mL; logrando la primera dilución de 10^{-1} , se realizaron diluciones seriadas base 10 hasta 10^{-6} . Posteriormente en cajas Petri con medio de cultivo PDA acidificado con ácido sulfúrico al 5 %, se depositó 1 mL de cada dilución a partir de 10^{-2} ; las cuales se incubaron a temperatura ambiente hasta la aparición de colonias fungosas (Rojas, 2011).

La identificación de *Trichoderma* spp. se realizó teniendo en cuenta la morfología y disposición de las fiálides y esporas, su esporulación verde y olor típico a coco (Rifai, 1969).

Se trabajó con 20 cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de diferentes localidades de los municipios del sur de Nariño y una comercial (Tab. 1).

Tabla 1: Registro de la colección de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp. empleados en este estudio, en el departamento de Nariño.

Abreviación	Localidad	Abreviación	Localidad
(cepa)	C11	Ipiales 3
C1	Córdoba 1	C12	Ipiales 4
C2	Córdoba 2	C13	Puerres 1
C3	Córdoba 3	C14	Puerres 2
C4	Córdoba 4	C15	Puerres 3
C5	Gualmatan 1	C16	Puerres 4
C6	Gualmatan 2	C17	Potosí 1
C7	Gualmatan 3	C18	Potosí 2
C8	Gualmatan 4	C19	Potosí 3
C9	Ipiales 1	C20	Potosí 4
C10	Ipiales 2	C21	Lab. Perkins

Pruebas de antagonismo *In Vitro*. Se usó un diseño irrestrictamente al azar con 21 tratamientos correspondientes a cepas de *Trichoderma* spp. frente al hongo *F. oxysporum* con diez repeticiones, siendo la unidad experimental una caja de Petri. Se realizaron pruebas de antagonismo *In vitro*, para lo cual se sembraron discos de un centímetro de

diámetro de la colonia pura de cada hongo extraída con sacabocados y sembrada en los extremos de la caja Petri con PDA, de tal manera que se situó el antagonico frente al patógeno teniendo en cuenta que *F. oxysporum* se debe sembrar un día antes que el antagonista, con el objetivo de que *Trichoderma* spp. reconozca la presencia del patógeno al compartir el medio (Howell, 2003).

Se realizó un seguimiento durante tres semanas, con lecturas cada 24 horas a partir de la siembra, con el fin de medir el crecimiento micelial de los hongos *Trichoderma* spp. y *F. oxysporum* y se suspendió cuando el aislamiento del antagonico logró crecer hasta el extremo opuesto sobre el crecimiento micelial del patógeno. Además, cuando fue posible se determinó el halo de inhibición, los resultados obtenidos se estudiaron mediante análisis de varianza y prueba de significancia de Duncan.

Como criterio de selección para la fase de invernadero se tuvo en cuenta el crecimiento micelial y el halo de inhibición. Se tomaron cinco tratamientos (correspondientes al 24 %) del total evaluados, donde una de ellas era la cepa comercial de Perkins.

Pruebas de antagonismo en Invernadero. Las cuatro cepas de *Trichoderma* spp. obtenidas en laboratorio por su respuesta antagonica (C2, C7, C14 y C20), más la cepa comercial (Perkins), se evaluaron en fase de invernadero en un diseño irrestrictamente al azar, adicionándole un testigo inoculado con *F. oxysporum* pero sin *Trichoderma* spp. y un testigo absoluto para un total de siete tratamientos, con cuatro repeticiones; la unidad experimental correspondió a ocho plantas de arveja sembradas en bolsas de 3 Kg.

En esta prueba se manejó suelo esterilizado para evitar contaminación con otros microorganismos; Cada tratamiento de *Trichoderma* spp. se aplicó por drench en el momento de la siembra de la arveja variedad Santa Isabel, a excepción de los dos testigos, con una dosis de 50 mL de solución por bolsa, a una concentración de 1×10^6 conidias \cdot mL⁻¹. Luego de esta inoculación se procedió a aplicar por drench la misma cantidad y concentración de *F. oxysporum* exceptuando el testigo absoluto.

Se midió a partir de la siembra la altura de la planta de arveja cada 30 días durante tres meses, para así determinar el crecimiento vegetativo; evaluaciones que se usaron para graficar las curvas de desarrollo. Al final del ensayo se evaluó la incidencia, teniendo en cuenta el número de plantas muertas, por presencia de síntomas aéreos y/o en la raíz (revisando los haces vasculares) y verificando el diagnóstico con reaislamiento del patógeno; además, se evaluó altura de planta, longitud de raíz y materia seca de raíces. Los datos obtenidos se interpretaron mediante análisis de varianza y prueba de significancia de Tukey.

Prueba de Antagonismo en Campo. Se estableció en un lote de la granja experimental Botana con antecedentes históricos de incidencia de amarillamiento en arveja. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con las cepas C7, C14 y C21 obtenidas en la fase de invernadero y un testigo absoluto, con 3 repeticiones (Fig. 1). Se aplicó en el momento de la siembra de arveja variedad Santa Isabel, a los 15 días y 30 días cada tratamiento de *Trichoderma* spp. con una dosis de 50 mL por planta, a una concentración de 1×10^6 conidias $\cdot \text{mL}^{-1}$, exceptuando al testigo absoluto. Las unidades experimentales se establecieron en un área de 10m^2 ($4 \text{m} \times 2.5 \text{m}$) correspondiente a cuatro surcos sembrados a una distancia de 1m entre surco y 15cm entre planta. El área útil de la parcela fue de 4.4m^2 ($2 \text{m} \times 2.2 \text{m}$).

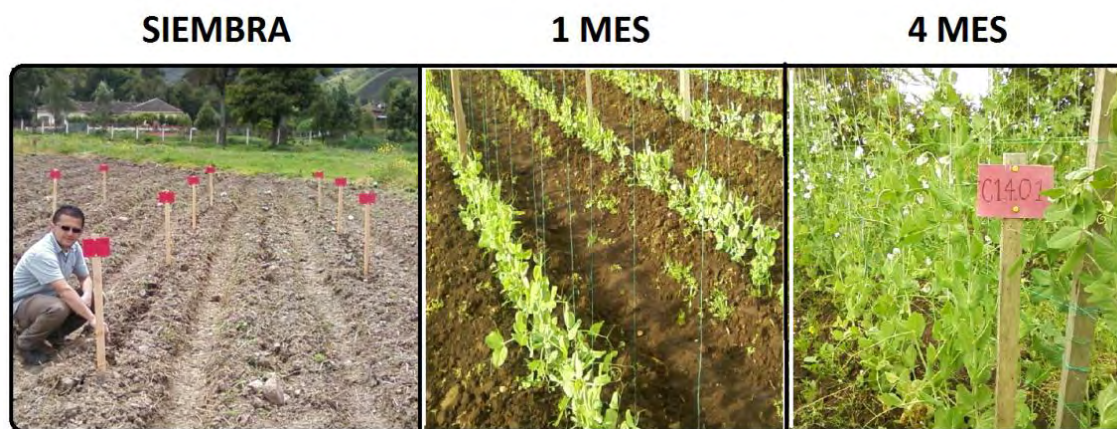


Figura 1: Etapas del cultivo de Arveja en evaluación del efecto de *Trichoderma* sp sobre *F. oxysporum* a condiciones de campo.

Los componentes de rendimiento evaluados fueron el número de vainas por planta en 28 plantas; el peso de vaina verde y número de granos por vaina en 20 vainas al azar.

Asimismo, se valoró la altura de planta tomando las 28 plantas de la parcela útil, midiendo su longitud en metros desde el cuello de la raíz hasta el último foliolo y obteniendo el promedio, también se evaluó longitud de raíces en centímetros medidos desde la base del tallo hasta la parte terminal de las raíces. Los datos obtenidos se interpretaron mediante análisis de varianza y prueba de significancia de Tukey.

Al final del ensayo se determinó el porcentaje de incidencia, realizando un muestreo destructivo de las plantas para revisar la presencia de síntomas en raíz, posteriormente se verificó el diagnóstico con reaislamiento del patógeno.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PRUEBAS DE ANTAGONISMO *In Vitro*

Al realizar el análisis de varianza se evidenciaron diferencias significativas ($p \leq 0,01$) tanto para crecimiento micelial, como para halo de inhibición (Tab. 2), mostrando un efecto diferencial de los tratamientos sobre la cepa de *Fusarium oxysporum* de Potosí seleccionada por su agresividad en crecimiento micelial (Fig. 2).

Tabla 2: Cuadrados medios, coeficiente de determinación (R^2) y coeficiente de Variación (C.V.) de las variables Crecimiento micelial y Halo de inhibición en condiciones in-vitro.

Fuente de Variación	gl	Crecimiento micelial	Halo de Inhibición
Cepa	20	2,14**	9,38**
Error	189	0,25	0,31
R^2		0,47	0,76
CV		14,36	17,69

** = Diferencias estadísticas significativas ($p <= 0,01$)

Esta actividad antagónica ha sido reportada en varios estudios, en los cuales se exponen los diferentes mecanismos empleados por el agente biocontrolador *Trichoderma* spp., para la disminución o eliminación de la población de hongos fitopatógenos. Dentro de éstos, se encuentran el micoparasitismo, antibiosis, competencia por nutrientes y espacio (Kulling, 2000; Valencia y Arbeláez, 1999; CHET *et al.*, 1997).

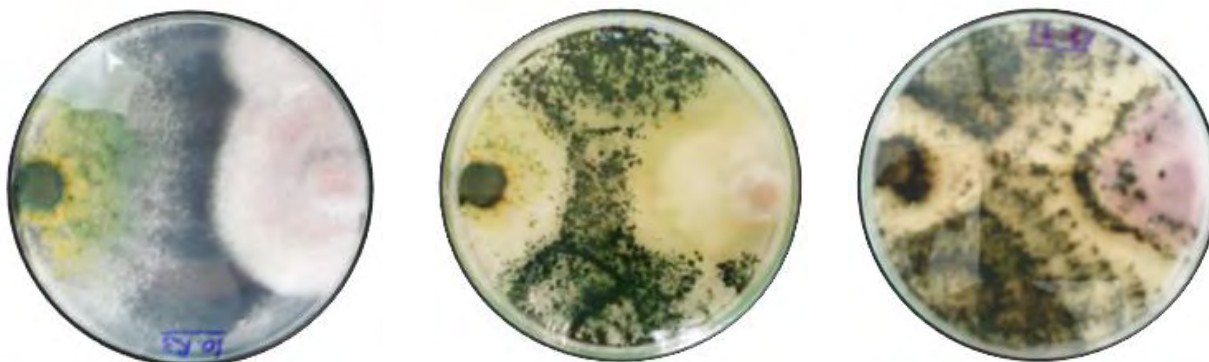


Figura 2: Enfrentamiento Dual entre *Trichoderma* spp. y *Fusarium oxysporum* en cajas Petri a condiciones de Laboratorio.

Al analizar los resultados obtenidos en la prueba de Duncan respecto a la capacidad antagónica de cepas de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum*, se observó que la

cepa 20 (Potosí 4) obtuvo el mayor promedio de crecimiento micelial con diferencias significativas con todos los tratamientos (Tab. 3), a excepción de las cepas 7 (Gualmatan 3) y 14 (Puerres 2) que hacen parte del grupo de las de mayor crecimiento en términos generales (Anexo 1). Esto debido a la capacidad antagónica de las cepas, que durante el proceso de micoparasitismo crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas y las penetran (Carsolio *et al.*, 1999), lo cual conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno.

Tabla 3: Comparación de Promedios de Duncan para la variable Crecimiento Micelial y Halo de Inhibición de *Trichoderma sp.*, en enfrentamientos duales con *Fusarium oxysporum* en evaluaciones en condiciones In-Vitro.

CEPA	Crecimiento Micelial	CEPA	Halo de Inhibición
20(Potosí 4)	4,67 A	2 (Cordoba 2)	4,20 A
7 (Gualmatan 3)	4,25 AB	1 (Cordoba 1)	4,10 AB
14(Puerres 2)	4,08 ABC	3 (Cordoba 3)	3,90 ABC
8 (Gualmatan 4)	3,99 BCD	14(Puerres 2)	3,90 ABC
9 (Ipiales 1)	3,82 BCDE	10(Ipiales 2)	3,70 ABC
18(Potosí 2)	3,71 BCDEF	5(Gualmatan 1)	3,70ABC
12(Ipiales 4)	3,65 BCDEF	21(Perkins)	3,70 ABC
19(Potosí 3)	3,53 CDEF	12(Ipiales 4)	3,50 ABC
21(Perkins)	3,47 CDEF	4 (Cordoba 4)	3,40 BCD
10(Ipiales 2)	3,45 CDEF	6 (Gualmatan 2)	3,40 BCD
16(Puerres 4)	3,36 DEF	17(Potosi 1)	3,40 BCD
17(Potosí 1)	3,31 EF	8 (Gualmatan 4)	3,40 BCD
2 (Córdoba 2)	3,18 EF	9 (Ipiales 1)	3,30 CD
6 (Gualmatan 2)	3,17 EF	18(Potosi 2)	3,20 CDE
13(Puerres 1)	3,16 EF	13(Puerres 1)	3,20 CDEF
5 (Gualmatan 1)	3,07 F	16(Puerres 4)	2,70 DEF
3 (Córdoba 4)	3,06 F	11(Ipiales 3)	2,60 EF
15(Puerres 3)	3,06 F	19(Potosi 3)	2,50 F
11(Ipiales 3)	3,05 F	15(Puerres 3)	2,50 F
1 (Córdoba 1)	3,04 F	20(Potosi 4)	1,40 G
4 (Córdoba 4)	3,04 F	7 (Gualmatan 3)	0,00 H
DMS:	3,074		0,753

Promedios con la misma letra no presentan diferencias altamente significativas ($p \leq 0,01$)

Romo y Ávila (2000) sustentan que *Trichoderma* spp. produce sustancias como trichodermina, dermadina, sequisterpeno, suzukacillina, alameticina, trichotoxina y acetaldehído, todas con propiedades antifungosas y antibacteriales; adicionalmente también están implicadas enzimas extracelulares tales como β -1,3 glucanasa, quitinasa y celulasa que degradan las paredes celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista.

Para *Trichoderma* varios autores han informado diferentes tipos de interacción hifal como parasitismo, considerándolos una potencialidad para su uso como biorreguladores de hongos del suelo (Correa 1997).

Bernal (2007) encontró enrollamiento y penetración de hifas de *Trichoderma* spp. en hifas de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*; por su parte Harman (2001), observó penetración en hifas de *Pythium* sp. y *R. solani*. Asimismo Rivero (2008), evaluaron cuatro aislamientos de *Trichoderma* sobre *Alternaria padwickii* (Ganguly) donde obtuvieron una alta capacidad competitiva, con dos o más tipos de interacción hifal.

Para halo de inhibición la prueba de Duncan muestra que se destacó la cepa C2 (Córdoba 2) con 4,2 mm, sin diferencias significativas con el grupo comprendido por C1, C3, C14, C10, C5, C21 y C12 con promedios que varían desde 3,5 hasta 4,1mm; pero con diferencias significativas con los demás tratamientos ($p \leq 0,01$)(Anexo 2); demostrándose la mayor capacidad de micoparasitismo de algunas cepas como C2, este mecanismo comienza cuando las cepas de *Trichoderma* detectan a otros hongos y crecen trópicamente hacia estos (Harman *et al.* 2004). Además, *Trichoderma* produce una variedad de metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos inhiben a otros organismos con los que no establece contacto físico. Entre las sustancias inhibitoras para contrarrestar a *Fusarium sp* se encuentran la gliotoxina, viridina y gliovirina (Howell, 2003).

Cabe destacar a la cepa C14 que presentó resultados positivos tanto en crecimiento micelial como en halo de inhibición debido a su agresividad, al pertenecer al grupo de mejor respuesta en términos generales.

Stefanova *et al.* (1999), informaron la presencia de metabolitos no volátiles con actividad antifúngica en cuatro aislamientos de *Trichoderma* y concluyeron que los mismos reducen el crecimiento micelial de *Phytophthora nicotianae*. Por otro método, Rivero (2008), evaluaron el efecto de antibiosis de dos aislados de *Trichoderma* en cultivo dual con *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata* y *Phoma* sp. obteniendo inhibición significativa del crecimiento radial de estos patógenos.

La competencia por nutrientes es un mecanismo empleado por *Trichoderma* para el control de *Fusarium oxysporum* (BENITEZ *et al.*, 2004). Un ejemplo de competencia por nutrientes es el notificado por Durman *et al.* (2003), quien encontró una disminución del crecimiento de *R. solani* y de la viabilidad de los esclerocios por la acción de diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp.

Los datos encontrados a nivel de laboratorio muestran el antagonismo entre un controlador biológico y un patógeno, concordando con lo expresado por Mroginski y Roca (1993). Lo cual lleva a verificar que controladores biológicos como las cepas de *Trichoderma* spp. usadas en esta investigación inhiben el desarrollo de *Fusarium oxysporum*, por tal razón fue necesario continuar con la investigación a nivel del invernadero y campo.

ANTAGONISMO EN INVERNADERO

Se evaluaron los tratamientos C2, C7, C14, C20 y el testigo comercial C21 (Perkins). Además, se estableció un tratamiento testigo con aplicación de *Fusarium oxysporum* y un testigo absoluto. En la figura 3 se puede observar un mejor desarrollo fisiológico representado en una mayor altura de planta para testigo absoluto, con respecto a los demás tratamientos. Las plantas de arveja inoculadas con *Trichoderma* que arrojaron los mejores resultados promedios fueron las tratadas con las cepas C7, C14 y C21, en relación a las cepas 2 y 20. Las lecturas para el Testigo *Fusarium* fueron considerablemente menores en relación con los tratamientos anteriormente mencionados.

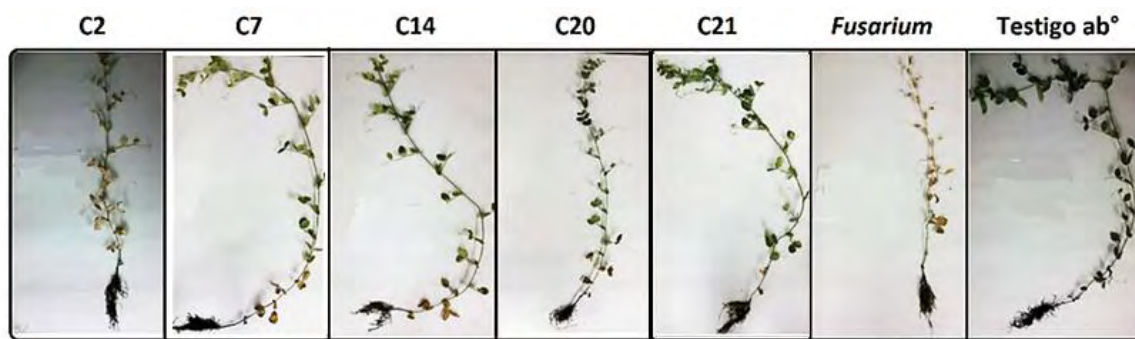


Figura. 3: comparación de tratamientos (C2, C7, C14, C20, C21, *Fusarium oxysporum* y Testigo absoluto) sobre plantas de Arveja a condiciones de invernadero.

El análisis de varianza de altura de planta, presenta diferencias significativas entre los tratamientos (Tab. 4). El testigo absoluto con una altura de 111,59cm; C7 con 101,66cm; C14 con 102,19cm y C21 con 100,16cm presentaron diferencias con C20 (78,53cm), C2 (75,84cm) y Testigo de *F. oxysporum* (67,22cm)(Anexo 3). Donde, las plantas afectadas por *Fusarium* sp. reducen su crecimiento debido a la capacidad del patógeno de colonizar raíces, lo que impide una adecuada nutrición de la planta (Agrios, 2002).

Tabla 4: Cuadrados medios, coeficiente de determinación (R^2) y coeficiente de Variación (CV) de las variables: Altura de planta, Longitud de raíz y Materia seca de Raíz en condiciones de invernadero.

Fuente de Variación	gl	Altura Planta	Longitud de Raíz	Materia Seca Raíz
Cepa	6	1131,59*	55,83*	4,21*
Error	21	21,94	1,79	0,11
R^2		0,91	0,88	0,89
CV		7,15	9,32	9,13

** = Diferencias estadísticas significativas ($p <= 0,05$)

Las curvas de desarrollo (Fig. 4) muestran los tratamientos con mejor respuesta al testigo absoluto, C7, C14 y C21 en comparación a C2 y C20; y una notable diferencia con el testigo inoculado únicamente con *Fusarium*. Además, se observó mayor efecto diferencial sobre la altura de plantas al finalizar el ciclo del cultivo. En este sentido, Agrios (2002) indica que el patógeno al ingresar a la raíz, extiende su micelio por los vasos xilemáticos dificultando el desarrollo de la planta; además, Ochoa y Fonseca (1998) afirman que la mayoría de los síntomas se presentan en una porción longitudinal de la planta que corresponde a la raíz afectada, para luego avanzar a toda la planta.

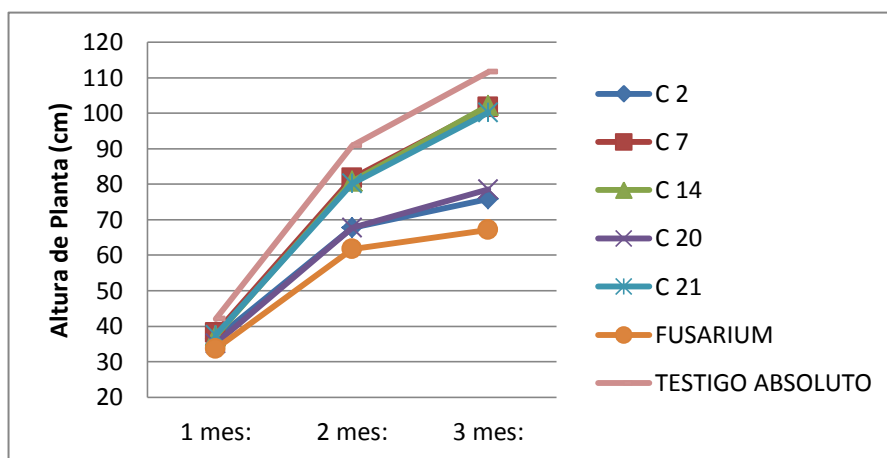


Figura 4: Curvas de desarrollo según altura de planta de arveja y efecto de *Trichoderma spp.* sobre *Fusarium oxysporum* en condiciones de invernadero.

El análisis de varianza de longitud de raíces (Tab. 4), muestra diferencias altamente significativas entre tratamientos, lo cual indica el efecto diferencial de los tratamientos sobre *Fusarium oxysporum*; igualmente, en el análisis de varianza en materia seca de raíces (Tab. 4), se evidencia resultados similares al de longitud de raíces.

La prueba de Tukey (Tab. 5), muestra mayor longitud de raíces en Testigo absoluto, C7, C14 y C21 con una longitud promedio de 23,87cm, 20,64cm, 20,00cm y 19,59cm respectivamente; con diferencias altamente significativas con respecto a los tratamientos C2, C20 y Testigo *Fusarium sp.* con 15,43cm, 14,83cm y 13,58cm respectivamente (Anexo 4); este bajo desarrollo es un indicio de la pudrición de la raíz, causada por el efecto de *F. oxysporum* como lo describe Agrios (2002) y se puede verificar en los tejidos internos de las raíces y de la base del tallo una pudrición seca de coloración rojiza (Sañudo *et al.*, 2007).

La materia seca de raíces según la prueba de Tukey (Anexo 5), evidencia que los diferentes tratamientos presentaron un comportamiento similar al de longitud de la raíz (Tab. 5). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Lewis *et al.* (1990) en trabajos realizados en condiciones de invernadero y campo, donde *Trichoderma* ejercía un control biológico sobre hongos en un cultivo de Tomate; esto puede deberse a que *Trichoderma* tiene la capacidad de crear un ambiente favorable al desarrollo radical (Harman *et al.* 2004), incrementando el crecimiento de raíces y su desarrollo, productividad del cultivo, resistencia a estrés abiótico y la toma y uso de nutrientes (Arora y Elander, 1992).

Tabla 5: Prueba de comparación de Medias Tukey para las variables Longitud de raíz y materia seca de plantas de arveja, en evaluaciones de cepas de *Trichoderma spp.* por su capacidad antagónica frente al hongo *Fusarium oxysporum* en condiciones de invernadero en Pasto:

TRATAMIENTO	Longitud raíz	Materia seca
Testigo Absoluto	23,87 a	5,93 a
C7 (Gualmatan 3)	20,64 b	5,28 b
C14 (Puerres 2)	20,00 b	5,18 b
C21 (Perkins)	19,59 b	5,06 b
C20 (Potosí 4)	15,43 c	3,94 c
C2 (Córdoba 2)	14,83 c	3,66 c
Testigo <i>Fusarium sp.</i>	13,58 d	3,11 d
DMS:	3,074	0,753

Promedios con la misma letra no presentan diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Ezziyyani *et al.* (2004) reportan que en plántulas de pimiento tratadas con *Trichoderma sp.* el peso seco y la longitud de plantas fue superior a las no tratadas lo que significa una mayor absorción de nutrientes, parcialmente atribuido al empleo de este inoculante ya que también puede depender de las comunidades microbianas asociadas a la rizósfera, la especie de planta, tipo de sustrato y prácticas culturales empleadas durante el cultivo.

El análisis de varianza de incidencia causada por *Fusarium oxysporum* sobre las plantas de arveja, muestra diferencias significativas entre los tratamientos: Testigo absoluto (0,0), C7 (5,39), C21 (7,18) y C14 (7,18); con relación a: C20 (43,64), C2 (59,58) y Testigo *Fusarium* (82,76) (Anexo 6). Siendo las cepas C7, C14 y C21 las que presentaron un menor índice de enfermedad, lo cual infiere que la baja incidencia de *F. oxysporum* se da por la penetración de *Trichoderma* spp. en la epidermis y la corteza externa de las raíces, lo que estimula el sistema de defensa en las plantas llevando a la producción de compuestos bioquímicos y estructurales de defensa (Yedidia *et al.*, 1999).

Inbar, *et al* (1994) observaron que aplicando *T. harzianum* en semilleros de pepino y de pimentón se incrementó significativamente el crecimiento de las plántulas, comparadas con aquellas que no recibieron la adición del hongo antagonista. Estos trabajos muestran el beneficio de aplicar hongos, como *Trichoderma* spp., desde la etapa de germinación para obtener plantas vigorosas y sanas.

ANTAGONISMO EN CAMPO

Los análisis de varianza para los componentes de rendimiento (Vainas por planta, Peso de vaina verde y Granos por vaina), indicaron diferencias significativas entre tratamientos, lo cual se corrobora con las pruebas de comparación de medias (Tab. 7). Así, según el análisis de varianza (Tab. 6) y las pruebas de Tukey (Anexos 7, 8 y 9), es claro que el tratamiento con un mayor efecto sobre las *Fusarium oxysporum* es el tratamiento C14, seguido de C21; esto debido a la buena adaptabilidad que presentaron estas cepas de *Trichoderma* en campo y de su agresividad para contrarrestar al patógeno.

Tabla 6: cuadrados medios (CM) de las variables: Altura de planta (AP), Longitud de raíces (LR), Vainas por planta (VP), Peso de la vaina en verde (PVV) y Granos por vaina (GV).

F.V.	gl	AP	LR	VP	PVV	GV
Bloque	2	0,01 ^{NS}	1,87 ^{NS}	0,09 ^{NS}	0,0032 ^{NS}	0,11 ^{NS}
Cepa	3	0,24*	69,77*	734,54 *	6,43 *	36,32*
Error	6	0,02	0,72	0,05	0,0012 ^{NS}	0,13
R2		0,89	0,88	0,97	0,98	0,94
CV		11,30	12,89	5,99	5,51	11,02

NS = No significativo

* = Diferencias estadísticas significativas (p<= 0,05)

Tabla 7: Prueba de Tukey para las variables: Vainas por planta (VP), Peso de vaina verde en gramos (PVV), Granos por vaina (GV), Altura de planta en metros (AP) y Longitud de raíces en centímetros (LR).

Tratamiento	AP	LR	VP	PVV	GV
C14	1,56 a	33,03 a	32,20 a	2,97 a	7,45 a
C21	1,54 b	32,64 b	32,12 a	2,95 a	7,10 a
C7	1,24 c	29,08 c	29,20 b	2,88 b	6,50 b
Testigo	0,94 c	22,62 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
DMS	0,182	2,397	0,651	0,031	0,52

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Los tratamientos C14 y C21 presentaron los mayores promedios para la variable número de vainas por planta con 32,20 vainas y 32,12 vainas respectivamente, con diferencias significativas con respecto a C7 con 29,20 vainas y Testigo que no tuvo producción de vainas (Anexo 7); resultados similares presentaron las variables de Peso de vaina verde (Anexo 8) y Granos por vaina (Tab. 7) (Anexo 9).

No obstante, y a pesar de conocer los efectos positivos generados por las cepas de *Trichoderma* spp., los fenómenos en la rizosfera son complejos y las diferencias obtenidas entre los tratamientos evaluados son difíciles de atribuir a un solo factor. Donde las variables de rendimiento presentan baja heredabilidad, por lo tanto muestran alta interacción con el ambiente (Muñoz, 2012). Cabe destacar, que *Trichoderma* spp. posee habilidades que le permiten ser un eficiente biocontrolador, y del mismo modo le permiten favorecer a las plantas tratadas por medio de la solubilización de nutrientes (Altomare *et al.* 1999), hecho que lleva a un mayor rendimiento.

De igual manera se observó que los tratamientos C14 con 33,03cm y C21 con 32,64cm mostraron diferencias significativas ($p \leq 0,01$) en longitud de raíz, con respecto a C7 y Testigo que presentaron un promedio de 29,08cm y 22,62cm respectivamente (Tab. 7) (Anexo 10). Arora y Elander (1992) afirman que la colonización de raíz por cepas de *Trichoderma* frecuentemente incrementa el crecimiento de raíz en muchos cultivos.

Las cepas de *Trichoderma* spp. están asociadas con raíces y sus ecosistemas, con capacidad de colonizar raíces de plantas por mecanismos similares a los de los hongos micorrizales y producir compuestos que estimulan el crecimiento como citoquininas, zeatinas y giberilinas (GA3); así como promover mecanismos de defensa en plantas (Harman *et al.* 2004).

Con relación a la variable altura de planta concuerda con los resultados de las variables anteriores, destacándose el tratamiento C14 con un promedio de altura de 1,56 m seguido

por C21 con 1,54m; C7 con 1,24m; y el testigo con un promedio de 0,94m (Anexo 11). Lo cual indica la acción de Trichoderma y son consistentes con los resultados obtenidos por Valencia y Arbeláez (1999), quienes reportan que el empleo de antagonistas como *Trichoderma* spp. estimula el crecimiento y desarrollo de las plantas en comparación con tratamientos testigo. Estos resultados coinciden por los expuestos por otros autores los cuales establecen que algunas especies de Trichoderma han sido reportadas como estimuladoras de crecimiento en especies tales como clavel, crisantemo, arveja, frijol (Soil-fertility, 2008).

Sin embargo, se puede pensar que la variabilidad en la altura de planta está determinada por factores ambientales. Makasheva R. (1983) afirma que la longitud del tallo de la planta de arveja en una misma variedad puede variar ampliamente dependiendo de las condiciones de crecimiento (suelo, clima, manejo agronómico, localización geográfica). Al respecto los suelos de Botana presentan malas propiedades físicas como suelos compactados, de mala estructura, lo que impide el desarrollo radicular de las plantas afectando a la altura total.

En el análisis de varianza y prueba de significancia Tukey de Incidencia causada por *Fusarium oxysporum* sobre las plantas de arveja, se evidencian diferencias significativas entre los tratamientos: C14 (1,36), C21 (2,73) y C7 (4,78); con relación al Testigo absoluto (68,96). (Anexo 12). Estos resultados constatan la presencia y agresividad de *F. oxysporum* hacia las plantas de arveja y el efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. como organismo biocontrolador, protegiendo y minimizando el ataque causado por *Fusarium oxysporum*.

CONCLUSIONES

Las cepas C2 (Córdoba 2), C7 (Gualmatan 3), C14 (Puerres 2), C20 (Potosí 4) mostraron antagonismo sobre *Fusarium oxysporum* en las variables de halo de inhibición y crecimiento micelial en condiciones In-Vitro.

En condiciones de invernadero las cepas C7, C14 y C21 fueron las que presentaron mejor respuesta en el control de *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*. en plantas de arveja, específicamente en porcentaje de incidencia, altura de planta, longitud y materia seca de raíces.

Las evaluaciones por componentes de rendimiento indican que las cepas C14 y C21 fueron los mejores tratamientos en el control de *Fusarium oxysporum* en plantas de arveja en campo, confirmando los resultados obtenidos en las pruebas de antagonismo tanto en laboratorio como en invernadero.

BIBLIOGRAFÍA

- AGRIOS, G. 2002. Fitopatología. México: Limusa. 850 p.
- ALTOMARE, C.; NORVELL, W.A.; BJORMAN, T. y HARMAN. 1999. Solubilization of Phosphates and Micrinutrients by the Plant-Growth-Promoting and Biocontrol Fungus *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology. Disponible en http://gredos.usal.es/jspui/bitstream/10366/22506/3/DMG_.pdf. Consultado 11 de agosto 2012.
- ARGÜELLO, H.; LASTRES, L.; RUEDA, A. 2007. Programa de Manejo Integrado de Plagas en América Central (PROMIPAC-ZAMORANO-COSUDE). (Ed). Manual MIP en cucúrbitas. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Escuela Agrícola Panamericana, Honduras. 244 p.
- ARORA y Elander. 1992. Laccase production by some whime rot fungi under different nutritional. Biotechnol. Disponible en <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis98.pdf>. Consultado julio 20 de 2012.
- BENITEZ, T.; RINCON, A.M.; Limón, M.C. and Codón, A. 2004. Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. International Microbiology. 7: 249-260 p.
- BERNAL, A.; ANDREU, C.; MOYA, M. 2004. Utilización de *Trichoderma* spp. como alternativa ecológica para el control de *Fusarium oxysporum* sp. *cubense* (EF Smith) Snyder & Hans. Cuba. Consultado: 22 abr 2007. Disponible en: <http://www.virtualcentr.org/es/enlIBTJ%20Tallr/bernalalexander.htm>.
- BOOTH, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Common wealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 237 p.
- BUITRAGO, J.; DUARTE, C. Y SARMIENTO, A. 2006. El cultivo de la arveja en Colombia, Federación Nacional de Cultivadores de Cereales y Leguminosas-FENALCE y Fondo Nacional Cerealista. Ed. Produmedios. Bogotá, Colombia. 102 p.
- CARSOLIO, C.; BENHAMOU, N.; HARAN, S.; CORTÉS, C.; GUTIERREZ, A.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A. 1999. Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. Appl Environ Microbiol. 65:929-935 p.
- CHET, I.; INBAR, J.; HADAR, I. 1997. Fungal antagonists and mycoparasites. In: Wicklow DT, Soderstrom B. (Eds) The Mycota IV: Environmental and microbial relationships. Springer-Verlag, Berlin. 165-184 p.

CORREA, F. 1997. Principales enfermedades del arroz. MIP en arroz. Manejo integrado de plagas. Artrópodos, enfermedades y malezas. Fundación Polar Venezuela, FEDEARROZ Colombia, FLAR, CIAT, Caracas, Venezuela. 123-141 p.

DURMAN, S.; MENÉNDEZ, A.; GODEAS, A. 2003. Evaluación de *Trichoderma* spp. como antagonista de *Rhizoctonia solani* "in vitro" y como biocontrolador del damping off de plantas de tomate en invernadero. Revista Argentina de Microbiología. 31(1):13-18 p.

EZZIYYANI, M.; PEREZ, C.; AHMED, A.; REQUENA, M. and CANDELA, M. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum L.*). Anales de Biología. Vol. 26. 35-45 p.

FENALCE. 2012. Especificaciones Técnicas de Semillas. Semillas de Arveja. Arveja Santa Isabel. Disponible en <http://www.finagro.com.co/html/cache/HTML/SIS/Arveja/EspecificacionesTcnicasdesemillas.pdf>. Consultado Febrero 13 de 2012.

GONZALEZ, J.C.; MARURI, J.M.; GONZALEZ, A. 2005. Evaluación de diferentes concentraciones de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium oxysporum* agente causal de la pudrición de plántulas en papaya (*Carica papaya L.*) en Tuxpan, Veracruz, México. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Veracruzana. Revista UDO Agrícola. 45-47 p.

HARMAN, G.E. 2001. *Trichoderma* spp., including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, moniliales (asexual classification system). Disponible en: <http://www.birdhybrids.com/t-22.htm>. Consultado: 12 feb 2007.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews. 43-56 p.

HOYOS-CARVAJAL, L.; CHAPARRO, P.; ABRAMS-KYM.; CHET, I. Y ORDUZ, S. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. Contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. Agronomía Colombia 26(3): 451-458 p.

HOYOS-CARVAJAL, L.M.; ORDUZ, S. y BISSETT, J. 2009. Growth stimulation in vean (*Phaseolus vulgaris L.*) by *Trichoderma*. Biological Control. 51 409-416 p.

HOWELL, CR. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant Dis. 87: 4-10 p.

INBAR, J.; ABRAMSKY, M.; COHEN, D.; CHET, I. 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. European Journal of Pathology 100:337-346 p.

INTA. 1987. Recomendaciones prácticas para el cultivo de la arveja. 1-50. EEA INTA San Pedro. En <http://es.scribd.com/doc/60330824/Pautas-Para-El-Manejo-Del-Cultivo-de-Arveja-Final>. Consultado marzo 7 de 2011.

KULLING, C. 2000. Enzyme Diffusion from *Trichoderma atroviride* (= *T. hazianum* P1) to *Rhizoctonia solani* Is a Prerequisite for Triggering of *Trichoderma ech42* Gene Expression before Mycoparasitic Contact. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 66, 2232-2234 p.

LEWIS, J.; BARKADALE, T.; PAPAVIDAS, G. 1990. Greenhouse and field studies on the biological control of tomato fruit rot caused by *Rhizoctonia solani*. *Crop Prot.* 9:8-14 p.

MAKASHEVA, R. 1983. The Pea. Published for the US Department of Agriculture and the National Science Foundation, Washington, DC. Amerind Publishing. Pvt. Ltd, New Delhi. 128 p.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. 2012. Encuesta Nacional Agropecuaria. Disponible en: <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/ReportesAjax/VerReporte.aspx>. Consultado el 12 de enero de 2013.

MROGINSKI, L. A.; ROCA, W. M. 1993. Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales in vitro. En: *Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones*. Cali, Colombia: CIAT. Disponible en <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/575/1112>. Consultado febrero 7 de 2012.

MUÑOZ, M. 2012. Interacción genotipo ambiente de 20 líneas de arveja arbustiva *Pisum sativum* L. Para cinco municipios de la zona sur del departamento de Nariño. Pasto, Colombia. 34-41 p.

Nelson, P. E. Toussoun, T. A. Y Marasas, W. F. O. 1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press. University Park of London.

NUTRIMON. 2007. Ensayo comercial en el cultivo de la arveja. Informativo productivo. Vol 3. 7p.

OCAÑA, A. 2008. Alerta *Fusarium* raza 4 amenaza los cultivos. Disponible en: http://www.freshplaza.es/news_detail.asp?id=8711 Consultado en febrero de 2010.

RIFAI, M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers*. Vol 2. 116 p.

RIVERO, D. 2008. Identificación y control *in vitro* con quitosana y *Trichoderma* spp. de hongos que causan el manchado del grano (*Oryza sativa* L.). *Rev Protección Veg.* 23(1): 67 p.

ROJAS, A. 2011. Conceptos y Prácticas de Microbiología General. Universidad Nacional Sede Palmira, Colombia. 155 p.

ROMO y AVILA. 2000. *Trichoderma* spp como agente de control biológico (parte I). Avances Agropecuarios. Órgano Informativo del departamento de agricultura y ganadería de la Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora. México. 2p. Disponible en www.chapingo.mx/dicifo/.../don-juan-macias-bonificacio-2206.pdf. Consultado en 12 agosto de 2012.

ROSETO, G. A. 2008. Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma* sp. y sus combinaciones para el control de *Fusarium oxysporum* en Sandía (*Citrullus lannatus*). Proyecto especial presentado para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciatura. Honduras. 26 p.

SAÑUDO, B.; ARTEAGA, G.; BETANCOURTH, C.; CORAL, S.; OROZCO, C. 2007. La arveja como opción competitiva en la Region Andina. Universidad de Nariño. San Juan de Pasto, 92 p.

SOIL-FERTILITY. 2008. *Trichoderma* espagnol index. Disponible en www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis98. Consultado abril 15 de 2012.

STEFANOVA, M.; LEIVA, A.; LARRIGANAGA, L.; CORONADO, MF. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Revista Facultad de Agronomía. 16:509-516 p.

TAMAYO, J. 2000. Enfermedades del cultivo de la arveja en Colombia: guía de reconocimiento y control. Boletín técnico. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Regional 4, Rionegro, Colombia. 52 p.

VALENCIA, J. y ARBELAEZ, G. 1999. Control biológico de la pudrición basal del tallo en crisantemo (*Dendranthema grandiflorum*) ocasionada por *Sclerotinia sclerotiorum* con algunos aislamientos de *Trichoderma* sp. y *Gliocladium* sp. Agronomía Colombiana. Vol. 16. 144 p.

YEDIDIA, I.; BENHAMOU, N. and CHET, I. 1999. Induction of Defense Responses in Cucumber Plantas (*Cucumis sativus* L) by the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum*. Applied and Environment Microbiology. Vol. 65 No. 3. P. 1061-1070. En <http://aem.asm.org/content/65/3/1061.abstract>. Consultado julio 24 de 2012.