# EVALUACIÓN DE CLONES DE CEBOLLA DE RAMA (Allium Fistulosum L.) Y CEPAS DE Trichoderma spp. AL ATAQUE DEL HONGO Fusarium oxysporum.

**JORGE ENRIQUE CASTRO FIGUEROA** 

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS CON ÉNFASIS
EN PRODUCCIÓN DE CULTIVOS
PASTO – COLOMBIA
2013

# EVALUACIÓN DE CLONES DE CEBOLLA DE RAMA (Allium fistulosum L.) Y CEPAS DE Trichoderma spp. AL ATAQUE DEL HONGO Fusarium oxysporum.

#### JORGE ENRIQUE CASTRO FIGUEROA

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Magister en Ciencias Agrarias con Énfasis en Producción de Cultivos

Presidente de tesis: CARLOS BETANCOURTH GARCÍA I.A. M.Sc.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS CON ÉNFASIS
EN PRODUCCIÓN DE CULTIVOS
PASTO – COLOMBIA
2013

\_

#### NOTA DE RESPONSABILIDAD

"Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de los autores"

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

| Nota de aceptación                                 |
|--|
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
| TULIO CESAR LAGOS I.A. Ph.D. Jurado                |
|  |
|  |
| LUIS ALFREDO MOLINA I.A. M.Sc.<br>Jurado           |
|  |
|  |
| JAIME BENAVIDES I.A. M.Sc. Jurado                  |
|  |
|  |
| CARLOS BETANCOURTH GARCIA I.A. M.Sc.<br>Presidente |

San Juan de Pasto, Septiembre de 2013

.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Carlos Betancourth García I.A. M.Sc. Tulio Cesar Lagos Burbano I.A. Ph.D. Luis Alfredo Molina Valero I.A. M.Sc. Jaime Benavides I.A. M.Sc. Benjamín Sañudo Sotelo I.A. Hernando Criollo Escobar I.A. Ph.D. Bayardo Yepes Chamorro I.A. M.Sc. Universidad de Nariño. Centro de Investigaciones Agrarias. CORPOICA

Todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la culminación de este trabajo.

# **DEDICADO A:**

Mi esposa Elizabeth Ramírez y mis hijas Dania Elizabeth y Marly Estefanía, por darme su comprensión y apoyo incondicional

#### RESUMEN

El amarillamiento de la cebolla de rama (Allium fistulosum L.) causado por el hongo Fusarium oxysporum es considerado una de las enfermedades más limitantes en las zonas productoras del departamento de Nariño. El propósito del presente estudio fue evaluar la reacción a la enfermedad de veinte clones de cebolla. seleccionados por su sanidad y características agronómicas sobresalientes en lotes epidémicamente afectados por amarillamiento, en los municipios de Pasto, Córdoba y Potosí. Además se colectaron plantas sintomáticas y suelo de rizosfera de plantas sanas, para aislar los hongos Fusarium oxysporum y Trichoderma spp., respectivamente. En el laboratorio de microbiología de la Universidad de Nariño se realizaron pruebas de antagonismo in vitro, con veinte cepas de Trichoderma enfrentadas a Fusarium oxysporum, se utilizó un Diseño Irrestrictamente al Azar y tres repeticiones. Después de evaluar las variables crecimiento micelial y halo de inhibición, se encontró que las mejores cepas de Trichoderma con capacidad antagónica eran la TCor4 (Córdoba), TPot3 (Potosí) y TPot5 (Potosí), las cuales se utilizaron para evaluar su efecto antagónico contra Fusarium oxysporum en condiciones de campo y en interacción con los clones de cebolla de rama seleccionados. Para esta prueba se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar en arreglo de Parcelas Divididas con tres repeticiones, donde los tratamientos correspondieron a las cepas TCor4, TPot3 y TPot5 de Trichoderma sp. y un testigo; los subtratamientos correspondieron a los veinte clones de cebolla de rama previamente seleccionados y multiplicados en campo. Para seleccionar a los tratamientos con las mejores medias se utilizó el Análisis de Varianza y la Prueba Múltiple de Tukey al 0.05.

En las evaluaciones en campo se pudo determinar que ninguno de los clones de cebolla de rama es resistente a *Fusarium oxysporum*, pero presentan diferentes niveles de tolerancia. Además se encontraron interacciones entre las cepas de *Trichoderma* y los clones de cebolla de rama para las variables: seudotallos por planta, peso de seudotallos, peso de plantas, peso de hojas por planta, peso de raíces, porcentaje de incidencia y rendimiento.

En los tratamientos que no incluyeron las cepas de *Trichoderma* sp., el menor porcentaje de incidencia se presentó con los clones Cor3, Pas1, Pas8, Cor4, Pas2 y Pot4 con porcentajes que varían entre 18,41% a 23,87% de incidencia.

Los clones Pas1 y Pot6 presentaron el menor porcentaje de incidencia en las interacciones con las cepas TCor4 y TPot5 de *Trichoderma* sp., con porcentajes de incidencia que varían entre 5,74 y 18,42%. Para la cepa TPot3 los clones Pas1,

Pot3, Pas5, Pas4 y Pot1 presentaron los menores porcentajes de incidencia que varían entre 5,74 y 14,20%.

Los clones Pas8, Pas2, Cor4, Pas5 y Pot2 con 44,03; 43,23; 42,10; 38,40 y 37,66 t.ha<sup>-1</sup> fueron los de mayor rendimiento en el tratamiento sin *Trichoderma* sp. Con la cepa TCor4 de *Trichoderma* los clones Pas8, Pas5 y Cor2 con 58,23; 52,67 y 49,49 t.ha<sup>-1</sup> presentaron los más altos rendimientos. Para la cepa TPot3, los clones Pas5, Pas8 y Pot3 con 55,90; 47,83 y 47,64 t.ha<sup>-1</sup> respectivamente, presentaron los más altos rendimientos. Los clones Cor3 con 50,23 t.ha<sup>-1</sup> y Pot6 con 49,58 t.ha<sup>-1</sup>, presentaron los mejores rendimientos en interacción con la cepa TPot5 de *Trichoderma* sp.

De acuerdo a las evaluaciones realizadas se pudo determinar que el rendimiento de la cebolla de rama es afectado negativamente por el ataque del hongo *Fusarium oxysporum*.

Palabras claves: amarillamiento, reacción a la enfermedad, clon, cepa, porcentaje de incidencia, rendimiento.

#### **ABSTRACT**

The yellowing phenomenon in the welsh onion (Allium fistulosum L.) produced by the fungus Fusarium oxysporum is considered one of the most important diseases in the production zones of Nariño department. The objective of this study was evaluate the reaction of 20 onion clones to this pathogen, selected in their salubriousness and outstanding agronomic traits from crops epidemiologically affected by yellowing in the Pasto, Córdoba and Potosí municipalities. Additionally, some plants with disease signs and rizosfera soil of healthy plants were collected in order to isolate Fusarium oxysporum y Trichoderma spp fungi, respectively. In the microbiology laboratory of Universidad de Nariño was tested the antagonism in vitro of 20 strains of Trichoderma confronted with Fusarium oxysporum, using a Completely Randomized Design with three repetitions. After to evaluate the variables mycelial growth and inhibition halo, the *Trichoderma* strains with the best antagonist capacity found were the TCor4 (Córdoba), TPot3 (Potosí) and TPot5 (Potosí), which were used to assess their antagonist effect against Fusarium oxysporum under field conditions and in interaction with the selected welsh onion clones. For this test a Randomized complete block design was used in conjunction with a Split-plot experiment and three repetitions, where the treatments corresponded the *Trichoderma* sp. TCor4, TPot3 and TPot5 strains and a witness, while the subtreatments were the 20 welsh onion clones previously selected and multiplied in field conditions. To select the treatments with the best means an analysis of variance and the Tukey multiple comparison test (0.05) were used.

Under field conditions none of the welsh onion clones was resistant to *Fusarium oxysporum*, but have certain tolerance levels. In the other hand, interactions were found between *Trichoderma* strains and the welsh onion clones for the variables pseudostems per plant, pseudostems weight, plants weight, leaves per plant weight, roots weight, incidence and yield percentages. In the treatments without *Trichoderma* sp strains included, the lowest incidence percentages was observed in the Cor3, Pas1, Pas8, Cor4, Pas2 and Pot4 clones with a range of incidence between 18,41% and 23,87%.

The Pas1 and Pot6 clones showed the lowest incidence values in the interactions with the *Trichoderma* sp strains TCor4 and TPot5 (5,74 - 18,42%). For the TPot3 strain the clones Pas1, Pot3, Pas5, Pas4 and Pot1 presented lowest incidence percentages (5,74 - 14,20%).

The Pas8, Pas2, Cor4, Pas5 and Pot2 with 44,03; 43,23; 42,10; 38,40 and 37,66 t.ha<sup>-1</sup>, respectively, had the highest yields in the treatments without *Trichoderma* 

sp. The *Trichoderma* TCor4 strain the clones with the best yields were Pas8, Pas5 and Cor2 with 58,23; 52,67 and 49,49 t.ha<sup>-1</sup>, respectively, while for the TPot3 strain, the highest yields were obtained with the Pas5, Pas8 and Pot3 (55,90; 47,83 and 47,64 t.ha<sup>-1</sup>, respectively). The clones Cor3 (50,23 t.ha<sup>-1</sup>) and Pot6 (49,58 t.ha<sup>-1</sup>) showed the best yields in interaction with the *Trichoderma* TPot5 strain.

According with these results, it was possible determine that the yield of the welsh onion is affected negatively by the *Fusarium oxysporum* outbreaks.

Keywords: yellowing, reaction to this pathogen, clones, strain, incidence percentage, yield.

## **CONTENIDO**

|   | Pág.  |
|---|-------|
| INTRODUCCIÓN  | 1Ω    |
| 1. MARCO TEÓRICO  |       |
|   |       |
| 1.1 GENERALIDADES   |       |
| 1.2 AGENTES CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN Y MARCHITAMIENTO DE               |       |
| CEBOLLA DE RAMA   |       |
| 1.3. MANEJO DEL AMARILLAMIENTO DE LA CEBOLLA DE RAMA (Allium            |       |
| fistulosum) CAUSADO POR EL HONGO Fusarium oxysporum                     | 21    |
| 1.3.1. Resistencia genética   | 21    |
| 1.3.2. Control biológico de la enfermedad                               | 23    |
| 2. DISEÑO METODOLÓGICO  | 28    |
| 2.1. FASE DE LABORATORIO  | 28    |
| 2.1.1. Localización   | 28    |
| 2.1.2. Recolección de material afectado para aislamiento de Fusarium sp | 28    |
| 2.1.3. Recolección de muestras de suelo para aislamiento de Trichoderma | a sp. |
|   | 28    |
| 2.1.4. Aislamiento y purificación de <i>Fusarium</i> spsp.              | 28    |
| 2.1.5. Identificación del patógeno                                      | 29    |
| 2.1.6. Aislamiento y purificación de <i>Trichoderma</i> sp              | 29    |
| 2.1.7. Identificación de <i>Trichoderma</i> sp                          | 29    |
| 2.1.8. Pruebas de antagonismo In Vitro                                  | 29    |
| 2.2. FASE DE CAMPO  | 30    |
| 2.2.1. Localización   | 30    |
| 2.2.2. Obtención de clones de cebolla de rama (Allium fistulosum L.)    | 30    |
| 2.2.3. Evaluación de los clones   | 31    |
| 2.2.3.1. Diseño y área experimental                                     | 31    |
| 2.2.3.2. Labores de cultivo   | 32    |

| 2.2.3.3 Variables evaluadas  | 33  |
|--|-----|
| 2.2.3.4 Análisis estadístico                                       | 33  |
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN  | 34  |
| 3.1. ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE Trichoderma sp. SOBRE Fusarium oxyspo | rum |
| EN CULTIVOS DUALES   | 34  |
| 3.2. ANTAGONISMO EN CAMPO  | 38  |
| 3.2.1. Número de seudotallos por planta                            | 39  |
| 3.2.2. Peso de seudotallos.  | 40  |
| 3.2.3. Peso de plantas   | 41  |
| 3.2.4. Peso de hojas por planta                                    | 42  |
| 3.2.5. Peso de raíces por planta                                   | 44  |
| 3.2.6. Porcentaje de incidencia de Fusarium oxysporum              | 46  |
| 3.2.7. Rendimiento   | 49  |
| CONCLUSIONES   | 52  |
| RECOMENDACIONES  | 53  |
| BIBLIOGRAFÍA   | 54  |
| ANEXOS   | 65  |
|  |     |

| Tabla 1. Análisis de Varianza de crecimiento micelial y halo de inhibición de los    |
|--|
| enfrentamientos duales de Trichoderma sp. y Fusarium oxysporum34                     |
| Tabla 2. Comparación de las medias de crecimiento micelial de <i>Trichoderma</i> sp. |
| dado en mm/dia35   |
| Tabla 3. Comparación de las medias de crecimiento del halo de inhibición en mm       |
| después del momento del encuentro entre Trichoderma sp. y Fusarium                   |
| oxysporum37  |
| Tabla 4. Análisis de Varianza de las diferentes variables evaluadas en los clones    |
| de cebolla de rama38   |
| Tabla 5. Comparación de promedios para número de seudotallos por planta de 20        |
| clones de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de Trichoderma y el           |
| testigo sin Trichoderma39  |
| Tabla 6. Comparación de promedios para peso de seudotallos en g de 20 clones         |
| de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de Trichoderma y el testigo sin      |
| Trichoderma40  |
| Tabla 7. Comparación de promedios para peso de plantas en g de 20 clones de          |
| cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de Trichoderma y el testigo sin         |
| Trichoderma42  |
| Tabla 8. Comparación de promedios para peso de hojas por planta en g de 20           |
| clones de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de Trichoderma y el           |
| testigo sin <i>Trichoderma</i> 43  |
| Tabla 9. Comparación de promedios para peso de raíces por planta en g de 20          |
| clones de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de Trichoderma y el           |
| testigo sin Trichoderma44  |

| Tabla 10. Comparación de promedios para porcentaje (%) de       | incidencia de    |
|---|------------------|
| Fusarium oxysporum en 20 clones de cebolla de rama con la a     | plicación de 3   |
| cepas de <i>Trichoderma</i> y el testigo sin <i>Trichoderma</i> | 46               |
| Tabla 11. Comparación de promedios para rendimiento en t.ha-1 d | e 20 clones de   |
| cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de Trichoderma y   | / el testigo sin |
| Trichoderma   | 49               |

# LISTA DE IMÁGENES

| P | á | q |
|---|---|---|
|   |   |   |

| Imagen 1. Mapa de colecta de clones de cebolla de rama y cepas de Trichoderma |
|---|
| sp30  |
| Imagen 2. Antagonismo de Trichoderma sp. con Fusarium oxysporum36             |
| Imagen 3. Halo de inhibición de Trichoderma sp. con Fusarium oxysporum36      |
| Imagen 4. Hojas de planta sana y planta afectada por Fusarium oxysporum43     |
| lmagen 5. Raíces de planta sana y planta afectada por <i>Fusarium</i>         |
| oxysporum45   |
| Imagen 6. Plantas sanas y afectadas por Fusarium oxysporum47                  |
| Imagen 7. Clones de cebolla de rama sanos y afectados por Fusarium oxysporum. |
| 50  |

# LISTA DE CUADROS

Pág.

| Cuadro 1. Datos de pasaporte de recolección de clones de cebolla de rama (Alliun | n |
|--|---|
| fistulosum) y cepas de Trichoderma sp. en el departamento de Nariño3             | 1 |

# **LISTA DE ANEXOS**

|   | Pág. |
|---|------|
| Anexo A. Resultados de análisis de suelos | 66   |

## INTRODUCCIÓN

En el departamento de Nariño la zona cebollera está distribuida en los municipios de Pasto, Potosí y Córdoba, con una área sembrada de 2.381 ha, una producción anual de 22.115 t, y rendimiento promedio de 10 t.ha-1 muy por debajo del promedio nacional de 25,3 t.ha-1, (Encuesta Nacional Agropecuaria, 2011), sin embargo esta actividad agrícola está presentando graves problemas fitosanitarios, generados principalmente por la ausencia de material vegetal mejorado o seleccionado con condiciones fitosanitarias aptas para ser utilizado por el agricultor como material de semilla asexual.

De otra parte, el manejo del cultivo como perenne donde se deja la "semilla" en el entresaque para la próxima cosecha, llegando a existir cultivos de hasta 20 años de edad y el desconocimiento por parte del agricultor del manejo integrado de este sistema productivo, está trayendo consigo la disminución del rendimiento, producción y rentabilidad.

Dentro de los problemas fitosanitarios más importantes que se están presentando en el cultivo de la cebolla de rama (*Allium fistulosum* L.) en las zonas productoras del departamento de Nariño, está la alta incidencia de la pudrición húmeda del sistema radical y posterior avance a la base del tallo hasta el amarillamiento y secamiento total de la planta, patología que se le atribuye al hongo *Fusarium oxysporum* (*Ortega*, 2004).

El hongo *Fusarium oxysporum* se encuentra afectando la totalidad de las áreas productoras del departamento de Nariño. A pesar de los tratamientos fitosanitarios que el cultivo recibe, el problema persiste y tiende a aumentar con las prácticas adoptadas por los productores, con la consecuente reducción de rendimientos. Además, la poca variabilidad genética presente en el departamento de Nariño y la falta de genotipos con mayores potencialidades de rendimiento y posible resistencia, hace cada vez más difícil el desarrollo de una actividad económica rentable para los cultivadores de cebolla.

Por lo expuesto anteriormente y con el objetivo de contribuir en la solución del problema fitosanitario conocido como amarillamiento en cebolla, se desarrolló la presente investigación donde se evaluaron 20 clones de cebolla de rama por su reacción al ataque del hongo *Fusarium oxysporum* en presencia de tres cepas de *Trichoderma* sp. con capacidad antagónica.

## 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1 GENERALIDADES

Desde tiempos prehistóricos, la cebolla ha sido cultivada y consumida como alimento. Se cree originaria del Asia Central y también del territorio comprendido entre la antigua Persia y la parte occidental de la India (CORPOICA, 2004).

La cebolla de rama es una monocotiledónea, de la familia: Alliaceae, género: *Allium*, especie: *Allium fistulosum*. Históricamente la cebolla de rama se conoce como cebolla japonesa y se ha clasificado en cuatro grupos principales: Kaga, Senju, Kujyo y Yagura negi. A excepción de la última, las otras producen seudotallos largos y blancos, con los cuales se fomenta su desarrollo mediante un aporcado repetido a medida que las plantas crecen. En Colombia no existen variedades mejoradas de cebolla de rama; por lo cual se siembran únicamente materiales regionales como: Junca, Imperial, Berlinera, Pastusa, Chava, Colorada, Bogotana y la Biónica (Pinzón, 2004).

La planta de cebolla de rama posee alta capacidad de división celular y buen desarrollo radicular (se puede extender verticalmente hasta 50 cm y horizontalmente hasta 40 cm), su hoja es erecta, tubular y cerosa. Por su fácil propagación vegetativa, altos rendimientos y buena calidad se ha manejado en Colombia como un cultivo semiperenne, constituyéndose en una especie de importancia para el pequeño y mediano productor (Jaramillo *et al.*, 1996; Ríos y Castro, 2002).

A nivel mundial, entre los principales hongos del suelo que afectan a la cebolla se encuentran especies de los géneros *Pythium, Fusarium, Phoma, Sclerotium, Botrytis, Sclerotinia, Colletotrichum* y los nematodos *Ditylenchus, Pratylenchus, Meloidogyne y Paratrichodorus* (Schwartz y Mohan, 1995; Montes *et al.*, 2009) En Colombia dentro de los principales problemas patológicos que se presentan en el cultivo de cebolla de rama en las zonas productoras están los hongos *Peronospora destructor, Alternaria porri, Heterosporium alli, Cladosporium alli, Sclerotium cepivorum, Fusarium oxysporum, Pyrenochaeta terrestris y el nematodo <i>Ditylenchus dipsaci* (Pinzón, 2004; Calle, 2005).

En la zona cebollera de Aquitania (Boyacá) se aislaron e identificaron los hongos *Fusarium oxysporum* y *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen). Sin embargo, en esta

región, estos microorganismos actúan como patógenos secundarios ya que el agente primario es el nematodo *Ditylenchus dipsaci* que ocasiona daños en el tallo, cuello de la raíz y raíces, lesiones que se constituyen en puente de entrada de hongos y bacterias (Pinzón, 2004).

# 1.2 AGENTES CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN Y MARCHITAMIENTO DE LA CEBOLLA DE RAMA

La enfermedad provocada por *F. oxysporum* f. sp. cepae presenta una importancia económica de primer orden en muchas regiones productoras de cebolla del mundo especialmente en cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.). En algunas áreas de los Estados Unidos han sido mencionadas pérdidas entre el 25 y 35% de la producción (Lacy y Roberts, 1982). Esta enfermedad se encuentra muy difundida donde se cultivan aliáceas en general. Afecta tanto a la cebolla como al ajo y a otras especies (Hio y Martínez, 2013).

Según Nico y Gonzáles (2006) en presencia de una alta densidad de inoculo en el suelo y en condiciones ambientales favorables, *F. oxysporum* f. sp. *cepae* puede atacar desde el mismo momento de la germinación, provocando retrasos en la misma, disminución del crecimiento o incluso damping – off o muerte prematura de las plántulas. Cuando la infección se produce en plantas maduras comienza por el disco basal del bulbo, que toma una coloración parda que desemboca más adelante en una pudrición húmeda. Tanto las raíces como los bulbos terminan por desprenderse del disco basal a la mínima tracción. En la parte aérea se presenta clorosis y necrosis del ápice de las hojas. Muy frecuentemente la planta muere antes de la madurez comercial.

Fusarium oxysporum ocasiona secamiento de las hojas en forma descendente con pudrición de raíces y en la zona afectada se aprecia un moho blanquecino formado por el micelio y esporas del hongo. Las heridas ocasionadas por larvas de insectos o ácaros y herramientas, permiten la entrada del patógeno. Por tal razón se recomienda un tratamiento de la semilla y del suelo antes de la siembra y a la cosecha un encalado al fondo del surco (Schwartz y Mohan, 1995; Leguizamón y Barriga, 2001; Apaza y Mattos, 2002)

Ortega (2004) y Muñoz y Lucero (2007) determinaron que el problema fitosanitario más grave de la cebolla, principalmente en el sur del departamento de Nariño, es el secamiento de las plantas, debido a pudriciones en la base del tallo y el sistema radical que se presenta con alta incidencia y vuelve la plantación improductiva.

En campo la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* progresa rápidamente a partir de focos iníciales de infección y se puede observar plantas de menor tamaño con hojas delgadas y amarillentas o de color verde pálido y un secamiento progresivo a partir de los extremos apicales; las plantas con ataques avanzados presentan menor altura, pocas hojas, las cuales se tornan flácidas y luego se secan. La parte subterránea manifiesta una deshidratación completa de los tejidos, con secamiento total de las membranas externas y secamiento de raíces, necrosis de la corteza y pudrición húmeda de los tallos (Ortega, 2004).

Hio y Martínez (2013) manifiestan que *Fusarium oxysporum* tiene tres formas de esporas: macrononidios, microconidios y clamidosporas. La temperatura óptima para el crecimiento y esporulación es 30 °C; pudiendo tener un comportamiento esporofítico muy vigoroso a temperaturas entre 10 y 30 °C. Es capaz de crecer y esporular sobre un amplio rango de valores de pH; creciendo mejor en condiciones de oscuridad continua.

Las clamidosporas al germinar llegan a crecer sobre las raíces en los diferentes puntos de contacto, hasta lograr entrar directamente a las mismas o por heridas (Martínez et al., 1995). Además, *Fusarium oxysporum* es un hongo con gran capacidad de sobrevivencia debido a sus clamidosporas y resistencia a la degradación química y microbiológica (Garcés et al., 2001).

# 1.3. MANEJO DEL AMARILLAMIENTO DE LA CEBOLLA DE RAMA (Allium fistulosum) CAUSADO POR EL HONGO Fusarium oxysporum.

**1.3.1.** Resistencia genética. La variabilidad de las plantas es la fuente para mejorar genéticamente las especies cultivadas. Lo anterior supone a su vez que el hombre debe preocuparse de mantener e incluso aumentar la variabilidad de dichas especies para alcanzar los objetivos del mejoramiento vegetal (Krarup, 1984).

El éxito de la identificación de fuentes de resistencia tiene relación directa con la diversidad de germoplasma disponible y con la probabilidad de que ocurra la resistencia en las poblaciones del huésped. La búsqueda de fuentes de resistencia se efectúa primero en los cultivos adaptados, luego en las introducciones de plantas y germoplasma exótico y finalmente en los parientes cercanos de las especies en cuestión. Con frecuencia la resistencia aparece en cultivos primitivos o especies emparentadas (Maxwell, 1984).

El control de los patógenos mediante la utilización de cultivares resistentes, es una medida efectiva que debe combinarse con otras estrategias que permitan el manejo integrado de la enfermedad. Por otra parte, el uso de materiales resistentes debe evaluarse durante varios ciclos de cultivo (Maselli *et al.*, 2000).

Numerosos estudios se han realizado en las principales universidades del mundo y Colombia, para entender las interacciones entre *Fusarium* sp. y sus hospederos, además de buscar la manera de controlar este hongo. Los resultados muestran que una de las maneras más eficaces de tratar el problema es buscar la tolerancia natural de las plantas (Arbeláez, 1987).

García et al. (2000) encontraron resistencia genética en cebolla de bulbo hibrido Grano de Oro, que se destaca por su buen comportamiento frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. Apaza y Mattos (2002) plantean que los cultivos de cebolla muestran diferentes reacciones a la infección por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*, pero se desconoce el mecanismo exacto de resistencia. En algunos casos la resistencia proviene de genes de otras especies de *Allium*, como el caso de cultivares que son híbridos con *Allium fistulosum*.

Galván (2009) investigó la resistencia a la podredumbre basal en especies del género *Allium* utilizando diferentes aislamientos de *Fusarium*. Una colección de aislamientos de Uruguay, Holanda y otros países fue analizada utilizando marcadores AFLP. La especie más abundante fue *F. oxysporum* seguida de *F. proliferatum*. Los aislamientos de *F.oxysporum* fueron agrupados en dos clases, lo que sugiere diferentes orígenes. Accesiones de cebolla y seis especies relacionadas (*A. schoenoprasum*, *A. fistulosum*, *A. galanthum*, *A. pskemense*, *A. royle*, *A. vavilovii*) fueron evaluados por su resistencia a *Fusarium* utilizando un aislamiento de *F. oxysporum* de cada clase y un aislamiento de *F. proliferatum*. *A. fistulosum* mostró alta resistencia a estos tres aislamientos y *A. roylei* tuvo niveles intermedios de resistencia. *A. fistulosum*, *A. roylei* y *A. galanthum* se identificaron como potenciales fuentes de resistencia a *Fusarium*.

Según Piccolo (2005) la resistencia genética es una alternativa viable y el medio más empleado en el control de *Pyrenochaeta terrestris*. Por su parte, Leguizamón y Barriga (2001) consideran que el rango de respuesta de los diferentes cultivares en lo que se refiere a su susceptibilidad es muy amplio y se ha comprobado que bajo una misma condición, la incidencia de la enfermedad puede variar del 1 al 40% entre los materiales tolerantes y susceptibles.

**1.3.2.** Control biológico de la enfermedad. El control biológico de enfermedades en plantas con agentes microbianos es una posibilidad atractiva, si se tiene en cuenta que los costos respecto al uso de otras prácticas tradicionales pueden resultar menores y de mayor eficiencia, pues aunque los antagonistas pueden actuar en forma más lenta y en menor escala, su acción puede ser más estable y duradera que el control químico, por citar un ejemplo (Badii y Abreu, 2006).

En este sentido, Jiménez y Agramonte (2002) consideran que el empleo de agentes biológicos para el control de plagas y enfermedades es una técnica con tendencia al incremento por ser económica, duradera y de resultados benéficos relacionados con la estabilidad que le ofrecen al ecosistema y evitan la contaminación del ambiente producida por la aplicación de plaquicidas.

Los microorganismos son componentes importantes del suelo y son los responsables de la dinámica de transformación y desarrollo de los procesos bioquímicos. En el suelo existe un equilibrio microbiológico, donde naturalmente las poblaciones se autorregulan (Borrero y Silva, 2005).

Entre los microorganismos saprófitos que se encuentran en los suelos y en todas las latitudes, están las especies pertenecientes al género *Trichoderma*, que se caracteriza por agrupar especies de gran eficiencia como antagonistas de patógenos del suelo de los géneros *Rhizoctonia, Sclerotium, Pythium, Phytophthora y Fusarium* (Stefanova *et al.*, 1999; Infante *et al.*, 2009; Semicol, 2010).

El género *Trichoderma* es el más empleado en el control de enfermedades causadas por hongos y puede actuar por medio de una combinación de diferentes mecanismos de acción como antibiosis, competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo, inducción de resistencia a la planta, secreción de enzimas y la producción de compuestos inhibidores (Reddy *et al.*, 1994; Páez y Sanabria 2007; Quiroz *et al.*, (2008); Infante *et al.*, 2009).

Además de estos mecanismos de acción este hongo tiene la capacidad de incrementar la tolerancia de las plantas al estrés ya que promueve la proliferación de raíces, participa en la solubilización y asimilación de nutrientes inorgánicos, activa los mecanismos de resistencia de las plantas e inactiva las enzimas de los patógenos (Alatomare *et al.*, 1999; Harman 2000).

Alatomare *et al.* (1999) señalan que *Trichoderma harzianum* posee la habilidad para solubilizar varios nutrientes de las plantas de sus fases minerales insolubles o escasamente solubles mediante mecanismos quelatantes y reductores; debido a estos mecanismos es que los fosfatos (principalmente de calcio), óxidos de hierro, óxidos de manganeso, cobre y zinc, suelen ser más asimilables para las plantas.

Kleifeld y Chet (1992) y Harman (2000) atribuyen el efecto sobre el crecimiento no únicamente a la protección contra patógenos, sino también a la presencia de un factor regulador de crecimiento. Cupull *et al.* (2003) plantean que existe evidencias experimentales que *Trichoderma* sp. induce el crecimiento de las plantas, aún en condiciones en que el suelo esté libre de patógenos actuando como bioestimulador.

El éxito de las cepas de *Trichoderma* como agentes de control biológico es debido a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir bajo condiciones de ambientes desfavorables, eficiencia en la utilización de nutrientes, capacidad para modificar la rizosfera, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos, eficiencia en promoción de crecimiento en plantas, inducción de mecanismos de defensa (Lecuona, 1996) y compatibilidad con plaguicidas como oxicloruro de cobre, metalaxyl, dimethomorph, trifluralin, napropamida y dimetoato (Muiño *et al.*, 2006). Estas propiedades han hecho que *Trichoderma* se presente en cualquier hábitat en una alta proporción. Por su parte, Harman (2000) manifiesta que el éxito del control de estos organismos se atribuye a la actividad sinérgica de diferentes mecanismos de acción. Mientras más modos de acción estén presentes en un aislamiento, mayor será la eficacia del mismo en el control del fitopatógeno, y por ende, menor el daño que puede causarle al cultivo (Infante *et al.*, 2009).

La primera delimitación genética de *Trichoderma* spp., la realizó Hartz en 1871, quien enfatizó la importancia y las características microscópicas en la delimitación del género, especialmente por la presencia de fiálides (Bisset, 1991; Carsolio *et al.*, 1999). *Trichoderma* produce tres tipos de propágulos que corresponden a hifas, clamidosporas y conidios Estas son activas contra fitopatógenos en diferentes fases del ciclo de vida, desde la germinación de las esporas hasta la esporulación. El parasitismo puede ocurrir mediante la penetración, engrosamiento de las hifas, producción de haustorios y desorganización del contenido celular (Fernández, 2001).

Las especies de *Trichoderma* son hongos que aparecen en cualquier tipo de suelo, produciendo colonias blancas, amarillas o típicamente verdes cuando se cultivan (Ramírez, 2009). Apodacca *et al.* (2001) demostraron que la temperatura

óptima de crecimiento de *Trichoderma* spp. se encuentra alrededor de 25 a 30°C y toleran un amplio rango de pH (2 – 8,5).

Cundom y Mazza (2000) en un ensayo *in vitro* encontraron que existe mucha variabilidad en la capacidad antagónica de diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp. Mihuta-Grimm y Rowe (1986) al evaluar 255 aislamientos de *Trichoderma* sp. obtenidos de diferentes zonas, donde el 15% de los mismos fueron efectivos al controlar *Rhizoctonia*, determinaron que las cepas aisladas del mismo lugar fueron más efectivas que las procedentes de otros sitios, datos que concuerdan con los obtenidos por Agamez (2009) al evaluar la capacidad antagónica de aislamientos de *Trichoderma* sobre *Fusarium* sp.; de igual manera, Acevedo y Arcia (1989) señalan la importancia de buscar antagonistas efectivos en cada área geográfica.

El biocontrol de hongos fitopatógenos y la biofertilización, empleando *Trichoderma* es un método utilizado en diversos cultivos en diferentes partes del mundo. Sin embargo, el uso de cepas comerciales presenta dificultades con su persistencia en el suelo, debido a factores como la genética de los aislamientos y las condiciones de medio ambiente. Por tal razón, es importante la selección de aislamientos nativos mejor adaptados a las condiciones edafoclimáticas de la zona específica donde serán utilizados (Gonzales *et al.*, 1999).

Sobre la localización del hospedante, *Trichoderma* puede detectarlo a distancia y sus hifas crecer en dirección al patógeno como respuesta a un estímulo químico. (Infante, 2009). Sobre este particular, Chet y Benhamou (1998) afirman que el reconocimiento molecular entre *Trichoderma* y el hospedante es el evento esencial que precede al proceso antagonista, el cual se lleva a cabo mediante interacciones lectinas-carbohidratos.

Así mismo, cuando la respuesta de reconocimiento es positiva, las hifas de *Trichoderma* se adhieren a las paredes del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorios, se enrollan alrededor de estas, todo esto mediado por enzimas como quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del hongo hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista (Haram *et al.*, 1996; Carsolio *et al.*, 1999; Pérez, 2004). El micoparasitismo finalmente termina con la retracción de la membrana plasmática y pérdida del contenido citoplasmático de las células del hospedante (Díaz, 1994; Tronsmo y Raa, 1997).

Hjeljord y Tronsmo (1998) manifiestan que muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico. Tales sustancias inhibidoras son consideradas antibióticos. Algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistentes al antibiótico (Vero, 1997).

Martínez *et al.* (2008) manifiestan que *T. harzianum* Rifai produce antibióticos no volátiles como: trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina.

Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático debilitando al patógeno y lo hace más sensible a los antibióticos no volátiles, lo que se conoce como un "hiperparasitismo" de origen enzimático (Martínez *et al.*, 1994).

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* y además al parecer, estos causan a nivel celular vacuolización, granulación, coagulación, desintegración y lisis. Rivero et al. (2008) evaluaron el efecto de antibiosis de dos aislados de *Trichoderma* en cultivo dual con *A. padwickii, B. oryzae, C. lunata* y *Phoma* sp., obteniendo inhibición significativa del crecimiento radial de estos patógenos.

La producción metabólica de los aislamientos de *Trichoderma* presenta, al igual que el micoparasitismo, determinada especificidad. Samuels (1996) informa sobre un grupo de cepas de *Trichoderma* denominado "Q" que produjeron gliotoxina y fueron efectivas frente a *R. solani*, pero no frente a *Pythium ultimum* Trow; mientras que otro grupo de cepas "P", que excretaron gliovirina mostraron resultados opuestos.

A continuación se citan algunos estudios y resultados que corroboran la importancia del género *Trichoderma* como agente antagonista:

En ajo se aplicó *Trichoderma* sp., para el control de *Fusarium* sp., donde el mecanismo de control fue el micoparasitismo (Quiroz *et al.*, 2008), por su parte Espino y Stefanova (2006), al utilizar *Trichoderma harzianum* en tabaco para el

control de *Phytophthora nicotianae* obtuvieron controles entre el 60 y 100%, además de tener efecto favorable sobre el desarrollo fisiológico de las plantas, y valores superiores de peso seco y fresco del tallo y las hojas, así como de largo de la raíz respecto al testigo sin tratamiento. En maracuyá Fernández y Suárez (2009) encontraron que *Trichoderma harzianum* compite por nutrientes y espacio, impidiendo el desarrollo normal de *Fusarium* sp. e inhibiendo en más del 50% el desarrollo de éste.

En el cultivo de banano Pérez *et al.* (2009) encontraron que el uso combinado de un sistema de semilla sana con la disminución o regulación de la población de focos del suelo, por aplicaciones de *Trichoderma harzianum* en los suelos infestados por *Fusarium oxysporum* f sp. *cubense* puede contribuir al mantenimiento de la producción. Gonzales *et al.* (2005) encontraron que *Trichoderma spp.* en concentraciones de 10<sup>6</sup> resultan efectivos contra *Fusarium oxysporum* causantes del damping-off en papaya.

La aplicación de *Trichoderma harzianum* en clavel ocasionó un retraso en la aparición de síntomas de marchitez vascular producida por *Fusarium oxysporum* (Dimaté *et al.*, 1996). Martínez *et al.* (2008), encontraron tres cepas de *Trichoderma* con cualidades de antagonismo contra *Rhizoctonia* en arroz.

Páez y Sanabria (2007) encontraron que *T. koningii* en condiciones *in vitro*, posee capacidad de control sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y el mecanismo de acción fue la antibiosis. Jaimes *et al.* (2009) demostraron que el hongo *Trichoderma koningiopsis* Th003 controla *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* mediante inducción de respuestas de defensa sistémica en las plantas de tomate. Sin embargo en *Lycopersicon esculentum* no se obtuvo control por *Trichoderma harzianum* al realizar inoculaciones conjuntas con *Phytophthora capsici, Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* (Fernández *et al.*, 2009).

### 2. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 2.1. FASE DE LABORATORIO

- **2.1.1.** Localización. El trabajo se desarrolló en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Nariño, ubicado a una altura de 2680 msnm, con temperatura promedio de 13°C.
- 2.1.2. Recolección de material afectado para aislamiento de *Fusarium* sp. En las zonas productoras de cebolla de rama del municipio de Potosí, se seleccionó un lote de cebolla con incidencia de la enfermedad superior al 80%, dentro del cual se procedió a colectar varios tallos de material afectado, los que se empacaron en bolsas de papel recubiertas con otra de polipropileno y se transportaron al laboratorio de la Universidad de Nariño para su posterior procesamiento.
- 2.1.3. Recolección de muestras de suelo para aislamiento de Trichoderma sp. En las zonas productoras del departamento de Nariño, correspondientes a los municipios de Pasto, Córdoba y Potosí (Imagen 1) se visitaron veinte lotes de cebolla de rama afectados por amarillamiento con una incidencia superior al 80%, donde se recolectaron 20 muestras de suelo de la rizosfera de plantas que no presentaban síntomas de la enfermedad y se depositaron 500 g en bolsas de polietileno, que fueron transportadas al laboratorio de microbiología de la Universidad de Nariño.
- **2.1.4.** Aislamiento y purificación de *Fusarium* sp. El material vegetal recolectado, se lavó con agua corriente, tomando trozos de tejidos de raíz y tallos sintomáticos de tamaño 5 mm x 5 mm, los cuales se sometieron a desinfestación en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 2 minutos y posterior enjuague en agua destilada durante 1 minuto (Agrios, 2004).

Estas muestras de tejido fueron sembradas en cajas petri con medio de cultivo PDA en concentración 50 g por litro de agua, acidificado con ácido sulfúrico al 1%, y se incubó a temperatura ambiente hasta el desarrollo de colonias fungosas, luego se purificó en el mismo medio; aquellas colonias del hongo que por su apariencia y color blancas, curubas, moradas o rosadas, se asemejen a lo registrado para *Fusarium* sp.

- **2.1.5.** Identificación del patógeno. La identificación del hongo se realizó por medio de las claves taxonómicas descritas por Alexoupolus y Blackwell (1996) y Booth (1977) con base en estructuras reproductivas como: conídias, macroconídias, clamidosporas y esporodoquios.
- **2.1.6.** Aislamiento y purificación de *Trichoderma* sp. a partir del suelo. De las muestras de suelo recolectadas se pesaron 10 g de suelo por muestra, se agregaron 90 ml de agua destilada estéril; obteniendo así una dilución de 10<sup>-1</sup>; de esta solución se transfirió 1 ml a un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada, y así conseguir la dilución 10<sup>-2</sup>, de esta manera sucesivamente hasta 10<sup>-6</sup>. En cajas petri esterilizadas con medio de cultivo PDA acidificado con ácido sulfúrico a una concentración de 0,5 N, se depositaron 1 ml de cada dilución a excepción de 10<sup>-1</sup>; esta dilución no se uso 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, se incubaron a temperatura ambiente hasta la aparición de colonias fungosas. Posteriormente se purificaron en el mismo medio aquellas que por su apariencia se asemejaron a *Trichoderma*.
- **2.1.7.** Identificación de *Trichoderma* sp. La identificación de *Trichoderma* sp. se realizó teniendo en cuenta la morfología y disposición de las fiálides y conídias, su esporulación verde y olor típico a coco y según los criterios taxonómicos establecidos por Alexoupolus y Blackwell (1996).
- **2.1.8. Pruebas de antagonismo In Vitro.** Se realizaron pruebas de antagonismo *in vitro* con *Trichoderma* sp. y *Fusarium oxysporum* purificados, para lo cual se sembraron en un extremo de la caja Petri un disco de agar de 1 cm de diámetro con micelio del patógeno *Fusarium oxysporum* y en el opuesto, el antagonista *Trichoderma* sp. a cinco cm aproximadamente entre ellos. *Fusarium* se sembró tres días antes que el antagonista. Se utilizaron veinte cepas de *Trichoderma sp.* (Cuadro 1) con tres repeticiones por tratamiento en un Diseño Irrestrictamente al Azar, siendo la unidad experimental una caja de Petri, y se llevaron a incubación en temperatura ambiente.

Se realizó un seguimiento durante 3 semanas, con lecturas cada 24 horas a partir de la siembra con el fin de medir en milímetros con ayuda de un nonio, el crecimiento micelial de los hongos *Trichoderma sp* y *Fusarium oxysporum*. La evaluación se suspendió cuando el aislamiento del antagónico logró crecer hasta el extremo opuesto sobre el crecimiento micelial del patógeno. Después se determinó el halo de inhibición. Con el promedio de crecimiento micelial por día y

el halo de inhibición se realizó el Análisis de Varianza para cada variable y las pruebas de significancia de Tukey.

#### 2.2. FASE DE CAMPO

- **2.2.1.** Localización. El trabajo de campo se desarrolló en la zona productora de cebolla de rama del municipio de Potosí, vereda Lourdes, a una altura de 2700 msnm, con temperatura promedio de 12°C, precipitación anual de 841 mm y humedad relativa de 73%. Para asegurar la presencia del hongo *Fusarium oxysporum*, se utilizó un lote de terreno cultivado con cebolla con más de un 80% de afectación por amarillamiento.
- 2.2.2. Obtención de clones de cebolla de rama (Allium fistulosum L.). Se utilizaron veinte clones de cebolla de rama (Cuadro 1) obtenidos directamente en fincas de productores de los municipios cebolleros del departamento de Nariño (Imagen 1). Para lo cual se visitaron lotes afectados por amarillamiento con una incidencia superior al 80% y se recolectaron plantas aparentemente sanas de acuerdo con criterios agronómicos como vigor, tamaño de la planta, arquitectura, número y grosor de tallos y sanidad. Estas plantas se replicaron durante tres ciclos de cultivo en un lote de terreno ubicado en la vereda San Pedro del municipio de Potosí.

Imagen 1. Mapa de colecta de clones de cebolla de rama y cepas de *Trichoderma* sp.



Cuadro 1. Datos de pasaporte de recolección de clones de cebolla de rama (*Allium fistulosum*) y cepas de *Trichoderma* sp. en el departamento de Nariño.

| No. | CLONES<br>DE<br>CEBOLLA<br>DE RAMA | CEPAS<br>DE<br>TRICHO-<br>DERMA | MUNICIPIO | VEREDA O<br>SECTOR | LATITUD       | LONGITUD      | ALT.<br>Msnm |
|-----|------------------------------------|---------------------------------|-----------|--------------------|---------------|---------------|--------------|
| 1   | Pas1                               | TPas1                           | Pasto     | El Encano          | 01° 10' 25.3" | 77° 09' 39.5" | 2931         |
| 2   | Pas2                               | TPas2                           | Pasto     | El Encano          | 01° 09' 31.6" | 77° 10' 11.0" | 2832         |
| 3   | Pas3                               | TPas3                           | Pasto     | El Encano          | 01° 09' 19.8" | 77° 10' 21.0" | 2822         |
| 4   | Pas4                               | TPas4                           | Pasto     | El Encano          | 01° 10' 02.2" | 77° 09' 37.6" | 2849         |
| 5   | Pas5                               | TPas5                           | Pasto     | Buesaquillo        | 01° 12' 58.2" | 77° 14' 38.3" | 2703         |
| 6   | Pas6                               | TPas6                           | Pasto     | Buesaquillo        | 01° 12' 58.2" | 77° 14' 38.3" | 2703         |
| 7   | Pas7                               | TPas7                           | Pasto     | Alianza            | 01° 13' 52.3" | 77° 14' 13.8" | 2867         |
| 8   | Pas8                               | TPas8                           | Pasto     | Alianza            | 01° 14' 06.4" | 77° 14' 19.3" | 2882         |
| 9   | Pas9                               | TPas9                           | Pasto     | Alianza            | 01° 14' 06.4" | 77° 14' 19.3" | 2882         |
| 10  | Pas10                              | TPas10                          | Pasto     | Alianza            | 01° 14' 06.4" | 77° 14' 19.3" | 2882         |
| 11  | Cor1                               | TCor1                           | Córdoba   | Tequís             | 00° 50' 38.8" | 77° 29' 53.1" | 2842         |
| 12  | Cor2                               | TCor2                           | Córdoba   | La Florida         | 00° 50' 26.8" | 77° 29' 33.2" | 2939         |
| 13  | Cor3                               | TCor3                           | Córdoba   | Santa Brigida      | 00° 50' 30.4" | 77° 29' 09.1" | 2932         |
| 14  | Cor4                               | TCor4                           | Córdoba   | Santa Brigida      | 00° 50' 27.1" | 77° 28' 21.0" | 2925         |
| 15  | Pot1                               | TPot1                           | Potosí    | Mueses             | 00° 48' 04.3" | 77° 34' 28.4" | 2888         |
| 16  | Pot2                               | TPot2                           | Potosí    | Mueses             | 00° 46' 28.5" | 77° 34' 13.7" | 3037         |
| 17  | Pot3                               | TPot3                           | Potosí    | Yamuesquer         | 00° 47' 03.6" | 77° 33' 28.4" | 3052         |
| 18  | Pot4                               | TPot4                           | Potosí    | Guaracal           | 00° 48' 24.3" | 77° 34′ 3.0″  | 2733         |
| 19  | Pot5                               | TPot5                           | Potosí    | Lourdes            | 00° 48' 41.0" | 77° 34' 10.8" | 2727         |
| 20  | Pot6                               | TPot6                           | Potosi    | Yamuesquer         | 00° 46' 53.2" | 77° 33' 17.1" | 3053         |

**NOTA**: Los clones de cebolla de rama y cepas de *Trichoderma* sp. se recolectaron el 9 de febrero de 2011.

#### 2.2.3. Evaluación de los clones

**2.2.3.1. Diseño y área experimental.** Se trabajó un diseño de Bloques Completos al Azar en arreglo de Parcelas Divididas con tres repeticiones. El factor A correspondió a las cepas de *Trichoderma* sp. y el testigo (sin antagónico), mientras que el factor B lo conformaron los clones de cebolla de rama. El área de cada unidad experimental fue de 12,6 m², para un área total de 3,024 m². En cada unidad experimental se hicieron 3 surcos de 4,2 m de largo por 1 m de ancho donde se sembraron 12 seudotallos por surco a una distancia entre planta de 35

cm. La evaluación de las variables se hizo en las plantas del surco central dejando una planta al inicio y final del surco, para eliminar el efecto de borde.

Los niveles del factor A correspondieron a las cepas TCor4, TPot3 y TPot5 de *Trichoderma* sp. seleccionadas en laboratorio por su mayor capacidad antagónica contra *Fusarium oxysporum*, mas el testigo sin *Trichoderma*.

Los niveles del factor B correspondieron a los clones Pas1, Pas2, Pas3, Pas4, Pas5, Pas6, Pas7, Pas8, Pas9, Pas10, Cor1, Cor2, Cor3, Cor4, Pot1, Pot2, Pot3, Pot4, Pot5 y Pot6.

**2.2.3.2. Labores de cultivo.** Antes de establecer el experimento en campo se hizo un análisis de suelo, para establecer sus propiedades físico-químicas y determinar los requerimientos nutricionales del cultivo (Anexo 1). El día de la siembra se hizo inmersión de los seudotallos en soluciones de cada tratamiento de *Trichoderma* (TCor4, TPot3 y TPot5) a una concentración de 1x10<sup>6</sup> conidias.ml<sup>-1</sup>, por 30 minutos.

A continuación se enumeran las principales actividades llevadas a cabo antes y durante el cultivo, de acuerdo con las recomendaciones de Corpoica (2004):

- a. Análisis de suelos.
- **b.** Preparación del suelo: se hicieron una arada y una rastrillada con bueyes. La surcada se la hizo con obreros.
- **c.** Distancia de siembra: un metro entre surcos y 0,35 cc entre plantas.
- **d.** Siembra: un seudotallo por sitio.
- **e.** Fertilización y aporque: Aunque el análisis de suelos indica buena disponibilidad de nutrientes y debido a que en Colombia no existe estudios de requerimientos nutricionales del cultivo de la cebolla de rama, se hizo aplicación de lombricompuesto en dosis de 1 t.ha<sup>-1</sup> en el momento de la siembra y fertilización química con un fertilizante compuesto de la fórmula 13-26-6 en dosis de 300 kg.ha<sup>-1</sup> más elementos menores en dosis de 50 kg.ha<sup>-1</sup>, al momento del primer aporque. En total se hicieron dos aporques.
- f. Manejo de malezas: una desyerba manual.
- g. Manejo de enfermedades y plagas.
- Mildeo velloso (*Peronospora destructor*): clorotalonil (0,8-1 kg i.a./ha.) y mancozeb (1-2 kg i.a./ha).
- Mancha púrpura (*Alternaria porri*): iprodione (0,3 kg i.a./ha).
- Secamiento de puntas (*Heterosporium alli*) y secamiento (*Cladosporium alli*): difeconazol (0,3-0,5 lt p.c./ha.).

Durante el crecimiento y desarrollo del cultivo no fue necesaria la aplicación de tratamientos químicos para el control de plagas que normalmente atacan a la cebolla de rama.

**2.2.3.3 Variables evaluadas.** En el momento de la cosecha se determinó el número de seudotallos por planta, peso de seudotallos, peso de plantas, peso de hojas por planta, peso de raíces por planta, porcentaje de incidencia y rendimiento.

El porcentaje de incidencia se determinó contabilizando la cantidad de plantas muertas o con síntomas de la enfermedad (*Fusarium oxysporum*) con respecto al número total de plantas evaluadas en el surco central (10 plantas) de cada parcela experimental.

Para el peso de plantas se tuvo en cuenta raíces, seudotallos y hojas ya que se comercializa prácticamente toda la planta.

Para evaluar el rendimiento se pesaron el total de plantas cosechadas en el surco central (área de 3,5 m²) y se hicieron los cálculos correspondientes para proyectarse a t.ha⁻¹. Además para el cálculo de esta variable se descontó el número de seudotallos (3) que normalmente el agricultor deja en el entresaque como "semilla" para la próxima cosecha.

**2.2.3.4 Análisis estadístico.** Para seleccionar a los tratamientos con las mejores medias se utilizó el Análisis de Varianza (ANDEVA) y la Prueba Múltiple de Tukey al 0,05. Los datos en porcentaje correspondientes a incidencia, se transformaron por la fórmula ARCSEN√%

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# 3.1. ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE *Trichoderma* sp. SOBRE *Fusarium* oxysporum EN CULTIVOS DUALES

El ANDEVA de las pruebas duales con las 20 cepas de *Trichoderma* sp. frente a *Fusarium oxysporum*, muestra diferencias altamente significativas para las medias de crecimiento micelial por día, como también para halo de inhibición (Imagen 2 y 3) indicando un efecto diferencial altamente significativo sobre *Fusarium oxysporum*, como se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Análisis de Varianza de crecimiento micelial y halo de inhibición de los enfrentamientos duales de *Trichoderma* sp. y *Fusarium oxysporum*.

| VARIABLES<br>DEPENDIENTES | CUADRADO MEDIO<br>(CM) | R <sup>2</sup> | CV    |
|---------------------------|------------------------|----------------|-------|
| Crecimiento micelio       | 4,35**                 | 0,99           | 5,92  |
| Halo de inhibición        | 2,95**                 | 0,83           | 18,23 |

<sup>\*\* =</sup> Diferencias estadísticas altamente significativas (p≤0,01)

Esta actividad antagónica de cepas de *Trichoderma* sp. ha sido reportada en varios estudios en los cuales se menciona los diferentes mecanismos empleados por *Trichoderma* sp., para la disminución o supresión de poblaciones de hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*. Entre estos modos de acción están la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis, los que tienen una acción directa frente al hongo fitopatógeno (Carsolio *et al.*, 1999; Muiño *et al.*, 2006; Poinar y Buckley, 2007).

La prueba de comparación de medias de Tukey (Tabla 2) muestra el efecto antagónico de *Trichoderma* sp. sobre *Fusarium oxysporum*, al observarse que las cepas TCor4, TPas9, TPas5, TPot5 y TPot3, son las de mayor promedio con 4,31; 4,28; 4,23; 4,15 y 3,82 mm de crecimiento micelial por día respectivamente.

Estos datos concuerdan con los obtenidos por Eraso y Acosta (2013) quienes encontraron promedios de crecimiento micelial por día de 4,25 a 4,67 mm en tres cepas de *Trichoderma* evaluadas por su capacidad antagónica contra *Fusarium oxysporum*. En este sentido Díaz (1994) manifiesta que el efecto de *Trichoderma* depende más del aislamiento que de la propia especie.

Tabla 2. Comparación de las medias de crecimiento micelial de *Trichoderma* sp. dado en mm/dia.

| Tratamiento: Cepas de | Media (mm) | Agrupación |
|-----------------------|------------|------------|
| Trichoderma sp.       |            | Tukey      |
| TCor4                 | 4,31       | Α          |
| TPas9                 | 4,28       | Α          |
| TPas5                 | 4,23       | Α          |
| TPot5                 | 4,15       | AB         |
| TPot3                 | 3,82       | В          |
| TPas6                 | 3,23       | С          |
| TCor1                 | 3,08       | С          |
| TCor3                 | 2,97       | С          |
| TPas4                 | 2,18       | D          |
| TPot1                 | 2,18       | D          |
| TPas2                 | 1,97       | D          |
| TPot6                 | 1,82       | D          |
| TPas1                 | 1,80       | DE         |
| TPot2                 | 1,77       | DE         |
| TPas3                 | 1.36       | EF         |
| TPas8                 | 1,26       | FG         |
| TPas10                | 1,25       | FG         |
| TPot4                 | 1,20       | FG         |
| TCor2                 | 1,18       | FG         |
| TPas7                 | 0,82       | G          |

Valores con la misma letra no representan diferencias significativas entre sí (Tukey (p≤0,05))

Orieta y Larrea (2001) encontraron que el valor promedio del crecimiento lineal de *Trichoderma sp.* está entre 5 – 6 cm en comparación con la cepa probada, observándose hiperparasitismo y en muchos casos incremento de la esporulación cuando crece sobre la colonia del patógeno. Por su parte, Cundom *et al.* (2000) al evaluar la actividad antagónica *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* encontraron variabilidad en la actividad antagónica de diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp. Martínez *et al.* (2008) trabajando con enfrentamientos duales de *Trichoderma* para controlar *Rhizoctonia* sp. en arroz determinaron que el 98,31% de los aislados de *Trichoderma* presentaron alta capacidad antagónica con diferentes tipos de interacción hifal como lisis, vacuolización, enrollamiento y penetración.

Quiroz et al. (2008) encontraron que las cepas de *Trichoderma* ST-2 y RP- 12b mostraron micoparasitismo en pruebas duales contra *Fusarium* en ajo y manifiestan que este mecanismo de antagonismo es una de las principales características de este género para inhibir o restringir el crecimiento de los patógenos.

Imagen 2. Antagonismo de Trichoderma sp. con Fusarium oxysporum.



Imagen 3. Halo de inhibición de Trichoderma sp. con Fusarium oxysporum



Para el halo de inhibición, la prueba de Tukey (Tabla 3) muestra que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, ya que las cepas TPas7 y TPot6 con 0,01 mm y 1,67 mm respectivamente, presentaron menor halo de inhibición con respecto a los demás tratamientos. Los mayores halos de inhibición se presentaron con las cepas TPas1 TPas2, TPot3, TCor2, TPas3, TCor4, TPot5,

TPas10 y TPas5, con medias de halo de inhibición que van de 4,33 mm para la cepa TPas1 hasta 3,66 mm para la cepa TPas5 de *Trichoderma*.

La comparación de medias de crecimiento micelial y halo de inhibición indican que dentro de las cepas recolectadas, aisladas, purificadas, multiplicadas y evaluadas existen cepas antagónicas contra Fusarium oxysporum, pero no necesariamente las cepas de Trichoderma que presentan mayor crecimiento del micelio como la cepa TPas9 y TPas5 son las que poseen mejor capacidad de antibiosis contra Fusarium oxysporum, ya que el mayor halo de inhibición de las veinte cepas de Trichoderma sp. se presentó con las cepas TPas1 y TPas2. Estos resultados obtenidos demuestran la variabilidad antagónica de diferentes aislamientos de Trichoderma spp. Al respecto, Lorito et al. (1998) mencionan que la máxima eficacia antagónica puede lograrse con el sistema enzimático completo, inclusive la selección tiene que ser más integral, donde intervengan diferentes modos de acción. Por ejemplo, Martínez et al. (2008), al evaluar 59 aislamientos de *Trichoderma* observaron competencia por el sustrato, micoparasitismo y antibiosis. En casi todos los aislamientos determinaron al menos un tipo de interacción hifal bien definida, y algunos de ellos presentaron hasta cuatro tipos de interacción sobre R. solani. Esto favorece el control por un lado y disminuye la posibilidad de que surja resistencia en el patógeno al antagonista (Vero, 1999).

Tabla 3. Comparación de las medias de crecimiento del halo de inhibición en mm después del momento del encuentro entre *Trichoderma* sp. y *Fusarium oxysporum*.

| Tratamiento: Cepas de<br>Trichoderma sp. | Media (mm) | Agrupación<br>Tukey |
|--|------------|---------------------|
|  | 4.00       |                     |
| TPas1                                    | 4,33       | Α                   |
| TPas2                                    | 4,33       | Α                   |
| TPot3                                    | 4,00       | Α                   |
| TCor2                                    | 3,68       | Α                   |
| TPas3                                    | 3,67       | Α                   |
| TCor4                                    | 3,66       | Α                   |
| TPot5                                    | 3,66       | Α                   |
| TPas10                                   | 3,66       | Α                   |
| TPas5                                    | 3,66       | Α                   |
| TPas8                                    | 3,33       | AB                  |
| TPas4                                    | 3,00       | AB                  |
| TPot4                                    | 2,67       | AB                  |
| TPot1                                    | 2,67       | AB                  |
| TCor3                                    | 2,67       | AB                  |
| TCor1                                    | 2,67       | AB                  |
| TPot2                                    | 2,66       | AB                  |
| TPas9                                    | 2,66       | AB                  |
| TPas6                                    | 2,66       | AB                  |
| TPot6                                    | 1,67       | BC                  |
| TPas7                                    | 0,01       | С                   |

Valores con la misma letra no representan diferencias significativas entre sí (Tukey (p≤0,05))

Teniendo en cuenta la importancia de seleccionar cepas de *Trichoderma* con más de un mecanismo de acción, para nuestro estudio en campo utilizamos las cepas TCor4, TPot3 y TPot5 ya que están entre las cepas que presentaron los mayores promedios de crecimiento micelial por día y su momento de encuentro con *Fusarium oxysporum* fue a los trece días, además también están entre las cepas que tienen los mayores promedios de halo de inhibición.

### 3.2. ANTAGONISMO EN CAMPO

El ANDEVA para número de seudotallos por planta, peso de seudotallos, peso de plantas, peso de hojas por planta, peso de raíces por planta, porcentaje de incidencia y rendimiento (Tabla 4), indica diferencias altamente significativas en las interacciones entre cepas de *Trichoderma* sp. por clones de cebolla de rama.

Tabla 4. Análisis de Varianza de las diferentes variables evaluadas en los clones de cebolla de rama.

| VARIABLES                | FUEN         | ITES DE VARI | IACIÓN CM    |                |       |
|--------------------------|--------------|--------------|--------------|----------------|-------|
| DEPENDIENTES             | CEPAS CLONES |              | CEPAS*CLONES | R <sup>2</sup> | CV    |
| Seudotallos por planta   | 33,86**      | 66,20**      | 28,66**      | 0,70           | 18,97 |
| Peso de seudotallos      | 1138,30ns    | 5468,49**    | 1032,25**    | 0,72           | 18,83 |
| Peso de plantas          | 166906,83*   | 678531,41**  | 323699,58**  | 0,72           | 16,32 |
| Peso de hojas por planta | 187085,29**  | 43485,38**   | 20541,06**   | 0,65           | 19,48 |
| Peso de raíces           | 681,59*      | 249,68**     | 172,21**     | 0,60           | 17,00 |
| Porcentaje de incidencia | 198.31ns     | 539.11**     | 90.95**      | 0,72           | 24,57 |
| Rendimiento              | 277,84*      | 546,25**     | 220,51**     | 0,73           | 23,98 |

ns = Diferencias estadísticas no significativas.

Estos resultados indican la especificidad que existe en las interacciones entre las cepas de *Trichoderma* y los clones de cebolla de rama evaluados.

<sup>\* =</sup> Diferencias estadísticas significativas (p≤0,05)

<sup>\*\* =</sup> Diferencias estadísticas altamente significativas (p≤0,01)

**3.2.1.** Número de seudotallos por planta. En ausencia de las cepas de *Trichoderma*, los clones de cebolla de rama Pot5, Pot2, Cor2 y Cor4 presentan el mayor número de seudotallos por planta con 22,1 a 19,3 seudotallos. El menor número de seudotallos por planta corresponde a los clones Pas1, Pas3 y Pas10 con 11,3 a 12,3 seudotallos.

En la interacción para la cepa TCor4 los clones Pot4, Pas9 y Pas5 presentan el mayor número de seudotallos por planta con 21,7 a 21,1 seudotallos. Los clones Pas1 y Pas6 con 10,9 y 11,9 presentan el menor número de seudotallos por planta respectivamente.

Tabla 5. Comparación de promedios para número de seudotallos por planta de 20 clones de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de Trichoderma y el testigo sin Trichoderma.

| TEST  | IGO  |        | TCor  | 4    |         | TPot  | 3    |       | TPot5 | ,     |        |
|-------|------|--------|-------|------|---------|-------|------|-------|-------|-------|--------|
| Pot5  | 22,1 | Α      | Pot4  | 21,7 | Α       | Pas6  | 23,9 | Α     | Pas9  | 29,11 | A      |
| Pot2  | 20,0 | AB     | Pas9  | 21,3 | Α       | Pas8  | 23,6 | AB    | Pot5  | 21,5  | В      |
| Cor2  | 19,7 | ABC    | Pas5  | 21,1 | AB      | Pas5  | 21,7 | ABC   | Pas6  | 21,0  | BC     |
| Cor4  | 19,3 | ABCD   | Pot5  | 20,4 | ABC     | Cor2  | 21,6 | ABC   | Cor3  | 19,8  | BCD    |
| Cor1  | 17,7 | ABCDE  | Cor2  | 20,3 | ABC     | Pot5  | 21,3 | ABCD  | Cor2  | 19,7  | BCDE   |
| Pas8  | 17,6 | ABCDE  | Pas8  | 18,8 | ABCD    | Pas2  | 19,8 | ABCDE | Pot3  | 18,4  | BCDEF  |
| Pas5  | 17,2 | ABCDEF | Pot2  | 18,3 | ABCD    | Pot2  | 19,7 | ABCDE | Pas2  | 18,3  | BCDEF  |
| Pas9  | 15,9 | BCDEFG | Pas3  | 17,8 | ABCD    | Pas7  | 18,7 | BCDEF | Pot6  | 17,9  | BCDEF  |
| Pas4  | 15,9 | BCDEFG | Pas2  | 17,7 | ABCDE   | Pas10 | 17,9 | CDEFG | Pot1  | 17,8  | BCDEFG |
| Pas2  | 15,5 | BCDEFG | Pas7  | 17,4 | ABCDEFG | Pot1  | 16,5 | DEFGH | Pas5  | 16,1  | CDEEFG |
| Pas7  | 15,4 | BCDEFG | Pas10 | 16,4 | ABCDEFG | Pot6  | 16,1 | EFGH  | Pas1  | 15,7  | DEFG   |
| Cor3  | 14,9 | CDEFG  | Cor1  | 16,2 | BCDEFG  | Pas9  | 15,9 | EFGH  | Pas3  | 15,6  | CDEFG  |
| Pot4  | 14,4 | DEFG   | Pot6  | 15,4 | CDEFGH  | Pot3  | 15,6 | EFGH  | Pot2  | 15,0  | CDEFG  |
| Pot1  | 14,3 | DEFG   | Cor3  | 14,9 | DEFGH   | Pas1  | 15,4 | EFGH  | Pas8  | 14,9  | CDEFG  |
| Pot6  | 13,4 | EFG    | Pot3  | 13,8 | DEFGH   | Cor4  | 15,3 | EFGH  | Pas4  | 14,8  | CEFG   |
| Pas6  | 13,4 | EFG    | Pas4  | 12,3 | EFGH    | Pot4  | 14,6 | EFGH  | Pas7  | 14,3  | FGH    |
| Pot3  | 13,3 | EFG    | Pot1  | 12,3 | EFGH    | Pas4  | 14,4 | FGH   | Pas10 | 13,7  | FGH    |
| Pas10 | 12,3 | FG     | Cor4  | 12,3 | FGH     | Pas3  | 13,7 | FGH   | Pot4  | 13,6  | FGH    |
| Pas3  | 12,1 | FG     | Pas6  | 11,9 | GH      | Cor1  | 13,2 | GH    | Cor4  | 12,5  | GH     |
| Pas1  | 11,3 | G      | Pas1  | 10,9 | Н       | Cor3  | 12,3 | Н     | Cor1  | 9,5   | Н      |

Valores con la misma letra no representan diferencias significativas entre sí (Tukey (p≤0,05))

Para la cepa TPot3, los clones Pas6 con 23,9 seudotallos y Pas8 con 23,6 seudotallos presentan el mayor número de seudotallos por planta. Las menores cantidades de seudotallos por planta correspondieron a los clones Cor3 y Cor1 con 12,3 y 13,2 seudotallos por planta respectivamente. Para la cepa TPot5, el clon Pas9 con 29,11 seudotallos presenta el mayor número de seudotallos por planta y el menor número de seudotallos fue para el clon Cor1 con 9,5 seudotallos por planta (Tabla 5).

El aumento en el número de seudotallos por planta para algunas interacciones por ejemplo el clon Pas9 con la cepa TPot5 puede haber estado determinado por la capacidad antagónica de la cepa de *Trichoderma* sp. que impidió el ataque del hongo *Fusarium oxysporum*, al respecto Mónaco et al. (1994) manifiestan que *Trichoderma* sp. puede inducir el crecimiento de las plantas, actuando como bioestimulador . Por su parte Sid et al. (1999) reportan que aplicaciones de *Trichoderma harzianum* en plantas de pimentón redujeron el progreso de la necrosis de los tallos.

**3.2.2. Peso de seudotallos.** En el tratamiento sin *Trichoderma* sp. se determinó que, los clones Pas2 con 146,8 g y Pot6 con 143,3 g presentaron los mayores pesos de seudotallos. En el caso del tratamiento con la cepa TCor4, el clon Pas1 tuvo el mayor peso de seudotallos, con 209,6 g.

Tabla 6. Comparación de promedios para peso de seudotallos en g de 20 clones de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de Trichoderma y el testigo sin Trichoderma

| TEST  | IGO   |     | TCor  | 4     |       | TPot3 | 3     |      | TPot5 |       |        |
|-------|-------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|--------|
| Pas2  | 146,8 | Α   | Pas1  | 209,6 | Α     | Pot3  | 149,5 | Α    | Cor1  | 156,3 | Α      |
| Pot6  | 143,3 | Α   | Pas8  | 158,3 | В     | Cor3  | 139,2 | AB   | Pas8  | 149,6 | AB     |
| Pas8  | 136,8 | AB  | Pot3  | 147,0 | BC    | Pot6  | 132,1 | AB   | Pot1  | 130,3 | ABC    |
| Pot1  | 134,9 | ABC | Pot1  | 146,7 | BC    | Pot4  | 130,8 | ABC  | Pot6  | 129,5 | ABC    |
| Pot3  | 127,7 | ABC | Pas4  | 144,4 | BC    | Pas1  | 125,7 | ABC  | Pot2  | 128,3 | ABC    |
| Pas5  | 124,7 | ABC | Pas10 | 141,7 | BCD   | Pas10 | 124,7 | ABC  | Pas4  | 126,4 | ABC    |
| Pas4  | 123,7 | ABC | Cor4  | 125,6 | BCDE  | Pot1  | 121,7 | ABC  | Cor3  | 124,0 | ABC    |
| Pas6  | 123,2 | ABC | Cor1  | 121,6 | CDEF  | Cor4  | 120,9 | ABC  | Pas2  | 121,5 | ABCD   |
| Pas3  | 122,9 | ABC | Cor3  | 118,5 | CDEFG | Cor1  | 120,2 | ABC  | Pas1  | 119,8 | ABCD   |
| Pas1  | 120,5 | ABC | Pas5  | 118,1 | CDEFG | Pas7  | 112,3 | BCD  | Pot4  | 119,7 | BCD    |
| Pas10 | 120,0 | ABC | Pas2  | 116,4 | CDEFG | Pas5  | 111,9 | BCD  | Pas10 | 117,7 | BCD    |
| Cor3  | 119,0 | ABC | Pot5  | 109,1 | DEFG  | Pot2  | 110,8 | BCDE | Pot3  | 110,3 | CDE    |
| Pot18 | 117,0 | ABC | Pot6  | 108,2 | DEFGH | Pas2  | 109,2 | BCDE | Cor4  | 110,2 | CDEF   |
| Pas7  | 115,3 | ABC | Pas7  | 98,6  | EFGH  | Pas4  | 105,5 | BCDE | Pas7  | 105,0 | CDEFG  |
| Cor4  | 113,7 | ABC | Pot4  | 94,7  | EFGH  | Pas8  | 91,4  | CDEF | Pas5  | 97,4  | CDEFGH |
| Pot2  | 105,6 | BCD | Pas3  | 91,0  | FGHI  | Pot5  | 85,2  | DEFG | Pot5  | 87,7  | DEFGH  |
| Cor1  | 104,5 | BCD | Pot2  | 89,0  | GHI   | Pas6  | 80,1  | DEFG | Pas3  | 81,6  | EFGH   |
| Pas9  | 101,5 | CD  | Pas6  | 85,9  | GHI   | Pas3  | 76,6  | EFG  | Cor2  | 74,6  | FGH    |
| Pot5  | 73,0  | DE  | Pas9  | 74,6  | HI    | Pas9  | 67,7  | FG   | Pas6  | 72,0  | GH     |
| Cor2  | 56,5  | E   | Cor2  | 58,8  |       | Cor2  | 55,7  | G    | Pas9  | 68,4  | H      |

Valores con la misma letra no representan diferencias significativas entre sí (Tukey (p≤0,05))

Con la interacción de la cepa TPot3, mostraron mayor peso de seudotallos los clones Pot3 y Cor3 con 149,5 y 139,2 g respectivamente.

El clon Cor2 presentó el menor peso promedio de seudotallos para los tratamientos sin *Trichoderma*, TCor4 y TPot3 con 56,5; 58,8 y 55,7 g respectivamente.

Para la cepa TPot5, los clones de mayor peso promedio de seudotallos fueron el Cor1 con 156,3 g y el Pas8 con 149,6 g. El clon Cor2 se encuentra entre los que presentaron el menor peso de seudotallos con 74,6 g, siendo el de menor peso el clon Pas9 con 68,4 g (Tabla 6).

Los anteriores resultados concuerdan con los obtenidos por Gonzales *et al.* (1994) cuando en un ensayo para evaluar el comportamiento de tres variedades de cebolla (*Allium cepa*) encontraron que el híbrido Granex 429 fue el cultivar que mostró mejor comportamiento frente a los patógenos *Fusarium oxysporum y Pyrenochaeta terrestris*, destacándose tanto por el mayor peso de los bulbos como por el menor número de plantas muertas. Por su parte, Espino y Stefanova (2006) obtuvieron mayor peso fresco del tallo de tabaco con la aplicación de *Trichoderma harzianum*, respecto al testigo.

**3.2.3. Peso de plantas.** En el tratamiento sin *Trichoderma* los mayores pesos de plantas se obtuvieron con los clones Pas8, Pas2 y Cor4, con 2272, 2260 y 2183 g respectivamente. Los clones de menor peso fueron el Cor2 y Pas1 con 1124 y 1330 g respectivamente.

Para la cepa TCor4 el clon Pas8 tuvo el mayor peso de plantas con 2828 g. El clon Pas6 fue el de menor peso con 1024. Para la cepa TPot3, el clon Pas5 con 2427 g tuvo el mayor peso promedio de plantas. Los clones Pas3 y Pas9 con 1043 y 1060 g presentaron el menor peso de plantas. Para la cepa TPot5, el clon Cor3 tuvo el mayor peso promedio de 2410 g y el menor peso de plantas correspondió al clon Pas3 con 1290 g (Tabla 7).

Estos datos concuerdan con los reportados por Agamez, *et al.* (1990) que encontraron aumento en peso de plantas de frijol con aplicaciones de *Trichoderma* sp. y Gonzales *et al.* (1999) obtuvieron incremento de la masa fresca, de plantas de tomate. Al respecto Gravel *et al.* (2007) reportan que la presencia de ácido indolacético en la raíz de tomate se incrementa con la presencia de *Trichoderma* sp dando como consecuencia mayor ganancia de biomasa.

Tabla 7. Comparación de promedios para peso de plantas en g de 20 clones de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de *Trichoderma* y el testigo sin *Trichoderma* 

| TEST  | IGO  |       | TCor4 | 4    |       | TPot3 |      |      | TPot5 |      |     |
|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|------|-------|------|-----|
| Pas8  | 2272 | Α     | Pas8  | 2828 | Α     | Pas5  | 2427 | Α    | Cor3  | 2410 | Α   |
| Pas2  | 2260 | Α     | Pas5  | 2495 | AB    | Pot3  | 2218 | AB   | Pot1  | 2325 | AB  |
| Cor4  | 2183 | AB    | Cor2  | 2450 | AB    | Pas10 | 2183 | AB   | Pot6  | 2317 | AB  |
| Pas5  | 2117 | ABC   | Pas10 | 2239 | BC    | Pot2  | 2160 | ABC  | Pas2  | 2217 | AB  |
| Pot2  | 2111 | ABC   | Pot5  | 2234 | BCD   | Pas8  | 2125 | ABC  | Pas8  | 2139 | AB  |
| Pas4  | 1971 | ABCD  | Pas2  | 2055 | BCDE  | Pot6  | 2101 | ABC  | Pot3  | 2011 | ABC |
| Cor1  | 1904 | ABCDE | Pot4  | 2044 | BCDE  | Pas7  | 2080 | ABC  | Pas9  | 1990 | ABC |
| Pot6  | 1898 | ABCDE | Cor1  | 1950 | CDEF  | Pas2  | 2063 | ABCD | Pot2  | 1883 | BCD |
| Pot1  | 1871 | ABCDE | Pas1  | 1876 | CDEFG | Pot1  | 2000 | ABCD | Pas1  | 1867 | BCD |
| Cor3  | 1743 | BCDEF | Pot3  | 1850 | CDEFG | Pas1  | 1900 | BCDE | Pas4  | 1863 | BCD |
| Pas7  | 1685 | CDEF  | Pas4  | 1808 | CDEFG | Pot4  | 1886 | BCDE | Pot5  | 1848 | BCD |
| Pas6  | 1644 | CDEF  | Cor3  | 1785 | CEDFG | Pas6  | 1875 | BCDE | Pot4  | 1620 | CDE |
| Pot4  | 1640 | CDEF  | Pot1  | 1763 | DEFG  | Cor4  | 1833 | BCDE | Pas10 | 1563 | CE  |
| Pot3  | 1619 | DEF   | Pot6  | 1638 | EFG   | Pot5  | 1767 | BCDE | Pas5  | 1489 | DE  |
| Pot5  | 1579 | DEFG  | Pot2  | 1628 | EFG   | Cor3  | 1685 | CDE  | Pas6  | 1480 | DE  |
| Pas9  | 1545 | DEFG  | Pas3  | 1627 | EFG   | Cor1  | 1588 | DEF  | Pas7  | 1479 | DE  |
| Pas10 | 1464 | DEFG  | Pas9  | 1617 | EFG   | Pas4  | 1464 | FG   | Cor2  | 1475 | DE  |
| Pas3  | 1453 | FG    | Cor4  | 1538 | G     | Cor2  | 1181 | G    | Cor1  | 1458 | E   |
| Pas1  | 1330 | FG    | Pas7  | 1454 | Н     | Pas9  | 1060 | G    | Cor4  | 1360 | Е   |
| Cor2  | 1124 | G     | Pas6  | 1024 | Н     | Pas3  | 1043 | G    | Pas3  | 1290 | Е   |

Valores con la misma letra no representan diferencias significativas entre sí (Tukey (p≤0,05))

**3.2.4. Peso de hojas por planta.** En el tratamiento que no incluyo las cepas de *Trichoderma* sp. los clones Cor1 y Pas7 con 540 y 534 g presentaron el mayor peso de hojas por planta El menor peso de hojas por planta lo tuvo el clon Cor2 con 189 g.

En la cepa TCor4 de *Trichoderma*, los clones Pot4, Pas9 y Pot6 con 663, 642 y 631 g respectivamente presentan los mayores pesos de hojas por planta. El clon Pas3 con 368 g tuvo el menor peso de hojas por planta.

Respecto a la cepa TPot3, el clon Pas2 con 800 g tuvo el mayor peso de hojas y el menor peso de hojas lo obtuvo el clon Pot5 con 384 g.

Para la cepa TPot5, los clones Pot6, Pot1 y Pas5 con 696, 684 y 646 g tuvieron los mayores pesos de hojas por planta. El menor peso de hojas lo tuvieron los clones Pas3, Pot2 y Pas4 con 374, 396 y 406 g (Tabla 8).

En la Imagen 4 se puede observar una planta sana la cual posee muchas hojas y una planta afectada por *Fusarium oxysporum* la cual presenta pocas hojas amarillentas, marchitas y secas, lo cual finalmente afecta el peso de hojas.

Tabla 8. Comparación de promedios para peso de hojas por planta en g de 20 clones de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de *Trichoderma* y el testigo sin *Trichoderma* 

| TES   | ΓIGO |        | TCor  | 4   |      | TPot  | 3   |      | TPot! | 5   |        |
|-------|------|--------|-------|-----|------|-------|-----|------|-------|-----|--------|
| Cor1  | 540  | Α      | Pot4  | 663 | Α    | Pas2  | 800 | Α    | Pot6  | 696 | A      |
| Pas7  | 534  | AB     | Pas9  | 642 | AB   | Pas8  | 672 | AB   | Pot1  | 684 | Α      |
| Pas9  | 524  | ABC    | Pot6  | 631 | AB   | Pas10 | 669 | AB   | Pas5  | 646 | AB     |
| Pot5  | 521  | ABC    | Pas10 | 612 | AB   | Pot1  | 669 | AB   | Pas1  | 604 | ABC    |
| Pas4  | 509  | ABC    | Pas8  | 602 | AB   | Pas1  | 656 | AB   | Pas8  | 591 | ABCD   |
| Pot6  | 503  | ABC    | Pot5  | 583 | ABC  | Pot6  | 645 | ABC  | Cor2  | 589 | ABCD   |
| Pas8  | 498  | ABC    | Pot1  | 578 | ABC  | Cor3  | 592 | BCD  | Pot3  | 571 | ABCD   |
| Pot4  | 495  | ABC    | Pas7  | 575 | ABC  | Pot4  | 577 | BCD  | Pas10 | 562 | ABCD   |
| Pot1  | 495  | ABC    | Pot3  | 556 | ABC  | Cor4  | 567 | BCD  | Cor3  | 561 | ABCDE  |
| Pas2  | 469  | ABCD   | Pas2  | 530 | ABCD | Cor1  | 551 | BCD  | Pas6  | 514 | ABCDEF |
| Cor4  | 456  | ABCDE  | Pas5  | 520 | ABCD | Pas6  | 539 | BCDE | Pas2  | 508 | ABCDEF |
| Cor3  | 438  | ABCDEF | Pas4  | 509 | ABCD | Pot3  | 521 | BCDE | Pot4  | 491 | BCDEF  |
| Pot2  | 416  | ABCDEF | Pas1  | 505 | BCD  | Pas7  | 520 | BCDE | Cor4  | 489 | BCDEF  |
| Pas5  | 413  | ABCDEF | Cor4  | 499 | BCD  | Pas4  | 518 | BCDE | Pas9  | 465 | CDEF   |
| Pas1  | 381  | BCDEF  | Cor1  | 495 | BCD  | Pas5  | 516 | BCDE | Pot5  | 459 | CDEF   |
| Pas3  | 369  | CDEF   | Pas6  | 440 | CD   | Cor2  | 492 | CDE  | Pas7  | 456 | CDEF   |
| Pot3  | 318  | DEFG   | Pot2  | 438 | CD   | Pot2  | 463 | DE   | Cor1  | 432 | DEF    |
| Pas6  | 300  | EFG    | Cor3  | 426 | CD   | Pas3  | 462 | DE   | Pas4  | 406 | EF     |
| Pas10 | 284  | FG     | Cor2  | 426 | CD   | Pas9  | 439 | DE   | Pot2  | 396 | F      |
| Cor2  | 189  | G      | Pas3  | 368 | D    | Pot5  | 384 | Е    | Pas3  | 374 | F      |

Valores con la misma letra no representan diferencias significativas entre sí (Tukey (p≤0,05))

Al respecto Chang *et al.* (1986) y Harman (2002) señalan que los aislamientos de *Trichoderma* pudieran no controlar ciertos patógenos, pero si pueden proporcionar a la planta vigor y crecimiento, lo cual mejoraría su habilidad para resistir el efecto perjudicial del patógeno.

Imagen 4. Hojas de planta sana y planta afectada por Fusarium oxysporum.



Kleifeld y Chet (1992) reportan que *Trichoderma* incremento el tamaño y área foliar de plantas de chile. Cruz y Cisterna (1998) indican que *T. harzianum* incrementan el número y peso de hojas de los cultivos tratados con el antagonista.

**3.2.5. Peso de raíces por planta.** En el testigo (sin *Trichoderma* sp.) el clon Cor1 tuvo el mayor peso de raíces de 64,67 g. El clon Pas10 con 36 g, tuvo el menor peso de raíces, sin embargo este clon presenta el mayor peso de raíces por plana en la interacción con la cepa TCor4 de *Trichoderma*.

El clon Pot2 presenta el menor peso de raíces por planta de 41,67 g con la cepa TCor4, pero se encuentra entre los clones que presentan el mayor peso de raíces con la cepa TPot3 con 62,61 g después de los clones Pas7 y Pot1 con 69,11y 67,00 g respectivamente.

En la cepa TPot5 el clon Pas9 presenta el mayor peso de raíces con 66,97 g, pero en la cepa TPot3 éste clon presenta el menor peso de raíces con 33,67 g. El clon Cor4 con 37,39 g presenta el menor peso de raíces en la interacción con la cepa TPot5 (Tabla 9).

Tabla 9. Comparación de promedios para peso de raíces por planta en g de 20 clones de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de *Trichoderma* y el testigo sin *Trichoderma* 

| TEST  | ΓIGO  |     | TCor4 | 4     |        | TPot3 |       |       | TPot5 |       |        |
|-------|-------|-----|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Cor1  | 64,67 | Α   | Pas10 | 65,11 | Α      | Pas7  | 69,11 | Α     | Pas9  | 66,97 | Α      |
| Cor4  | 57,46 | AB  | Pas2  | 64,27 | AB     | Pot1  | 67,00 | AB    | Pot3  | 64,50 | AB     |
| Pot1  | 56,58 | AB  | Cor1  | 62,91 | ABC    | Pot2  | 62,61 | ABC   | Cor3  | 62,72 | ABC    |
| Pas5  | 54,68 | AB  | Pas1  | 61,90 | ABCD   | Pas8  | 60,44 | ABCD  | Pas6  | 61,50 | ABCD   |
| Pas1  | 51,23 | ABC | Pot6  | 60,25 | ABCD   | Pas6  | 60,17 | ABCD  | Pot6  | 61,23 | ABCD   |
| Cor3  | 51,08 | ABC | Pot1  | 60,00 | ABCDE  | Pot5  | 60,01 | ABCDE | Pot1  | 61,17 | ABCD   |
| Pas6  | 50,75 | ABC | Pas4  | 59,91 | ABCDE  | Pas2  | 59,10 | ABCDE | Pas2  | 59,83 | ABCD   |
| Pas8  | 49,50 | BCD | Pas8  | 58,33 | ABCDE  | Pot4  | 58,78 | ABCDE | Pot2  | 58,25 | ABCD   |
| Pot5  | 48,62 | BCD | Pas9  | 58,33 | ABCDE  | Pot3  | 58,68 | ABCDE | Pas8  | 56,00 | ABCDE  |
| Pas7  | 48,08 | BCD | Pot4  | 55,58 | ABCDEF | Pas5  | 58,49 | ABCDE | Pot5  | 55,20 | ABCDEF |
| Pot6  | 48,06 | BCD | Pas5  | 55,26 | ABCDEF | Pas10 | 58,09 | ABCDE | Pas1  | 54,67 | ABCDEF |
| Pot3  | 47,14 | BCD | Cor2  | 54,65 | ABCDEF | Pot6  | 56,31 | ABCDE | Cor2  | 52,52 | BCDEF  |
| Pas9  | 46,67 | BCD | Pot3  | 54,58 | ABCDEF | Pas1  | 56,17 | ABCDE | Pas7  | 49,17 | CDEFG  |
| Pas2  | 45,20 | BCD | Pas7  | 53,36 | ABCDEF | Cor3  | 53,17 | BCDE  | Pas5  | 48,63 | CDEFG  |
| Pot2  | 44,36 | BCD | Pot5  | 52,90 | ABCDEF | Cor1  | 50,25 | CDE   | Pas10 | 48,42 | DEFG   |
| Cor2  | 43,66 | BCD | Pas6  | 50,43 | BCDEF  | Cor2  | 47,37 | DEF   | Pot4  | 47,75 | DEFG   |
| Pot4  | 40,42 | CD  | Pas3  | 49,97 | CDEF   | Cor4  | 46,94 | DEF   | Cor1  | 42,42 | EFG    |
| Pas3  | 40,18 | CD  | Cor4  | 47,25 | DEF    | Pas4  | 46,08 | EF    | Pas4  | 41,04 | FG     |
| Pas4  | 38,48 | CD  | Cor3  | 45,83 | EF     | Pas3  | 34,86 | F     | Pas3  | 37,58 | G      |
| Pas10 | 36,00 | D   | Pot2  | 41,67 | F      | Pas9  | 33,67 | F     | Cor4  | 37,39 | G      |

Valores con la misma letra no representan diferencias significativas entre sí (Tukey (p≤0,05))

En general se puede observar que *Fusarium oxysporum* afecta negativamente el peso de raíces, trayendo consigo disminución en el número y grosor de seudotallos (Imagen 5).

Al respecto, Méndez (2006) manifiesta que el uso de *Trichoderma harzianum* en varios tipos de hortalizas incrementa la absorción de nutrientes a través del mejoramiento y desarrollo radicular, promueve la disponibilidad de nutrientes para la planta y protege el sistema radicular del ataque de hongos patógenos y plagas. Además del desplazamiento y control de microflora deletérea de la raíz, diferentes especies de *Trichoderma* incrementan el crecimiento radical y el desarrollo de las plantas mediante una serie de mecanismos, que además de micoparasitismo y antibiosis incluyen competencia por nutrientes y espacio, tolerancia al estrés a través de un incremento en el desarrollo de la raíz y de la planta, inducción de resistencia, solubilización de nutrientes inorgánicos e inactivación de las enzimas de los patógenos (Kleifeld y Chet, 1992; Alatomare *et al.*, 1999; Harman, 2000).

Imagen 5. Raíces de planta sana y planta afectada por *Fusarium oxysporum*.



Cepas específicas del hongo del género *Trichoderma* pueden colonizar y penetrar los tejidos de las raíces de las plantas e iniciar una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en las plantas, lo cual conlleva a la resistencia sistémica inducida de la planta. La capacidad de *T. harzianum* de promover el crecimiento fue verificado en experimentos de invernadero y en sistemas hidropónicos, donde fue observado 30% de incrementos en la emergencia de la semilla, y estas plantas presentaron un incremento de 25% del área radicular, asimismo un incremento en las concentraciones de fósforo y hierro. (Yedidia *et al.*, 1999; Yedidia *et al.*, 2001).

Trichoderma sp. también tiene la capacidad de incrementar la tolerancia de plantas al estrés ya que promueve la proliferación de raíces, participa en la solubilización y asimilación de nutrientes inorgánicos, activa los mecanismos de resistencia de las plantas e inactiva las enzimas de los patógenos (Alatomare et al.,1999; Harman, 2000).

**3.2.6. Porcentaje de incidencia de Fusarium oxysporum.** En los tratamientos que no incluyeron las cepas de *Trichoderma* sp. el clon Cor2 presentó el mayor porcentaje de incidencia con 43,08%. El menor porcentaje de incidencia lo tuvieron los clones Cor3 y Pas1 con 18,41 y 18,42%.

En la cepa TCor4 de *Trichoderma*, el clon Pas6 con 41.14% presenta el mayor porcentaje de incidencia. El menor porcentaje de incidencia lo presenta el clon Pas1 con 5,74%.

Tabla 10. Comparación de promedios para porcentaje (%) de incidencia de *Fusarium oxysporum* en 20 clones de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de *Trichoderma* y el testigo sin *Trichoderma* 

| TEST  | ΓIGO  |       | TCor4 | 4     |      | TPot3 | 3     |       | TPot5 |       |     |
|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| Cor2  | 43,08 | Α     | Pas6  | 41,14 | Α    | Pas3  | 43,08 | A     | Cor2  | 45,00 | Α   |
| Pas9  | 36,95 | AB    | Pot4  | 31,00 | AB   | Cor2  | 41,15 | AB    | Pas3  | 39,23 | AB  |
| Pas3  | 35,22 | AB    | Pas9  | 31,00 | AB   | Pot4  | 36,93 | ABC   | Cor4  | 35,22 | ABC |
| Pas10 | 34,92 | AB    | Pot5  | 31,00 | AB   | Pot2  | 35,21 | ABCD  | Pas6  | 35,02 | ABC |
| Pot1  | 32,72 | ABC   | Pas3  | 30,80 | AB   | Pot5  | 33,01 | ABCDE | Pas5  | 33,01 | BC  |
| Pot3  | 32,71 | ABC   | Pas10 | 30,79 | AB   | Pas9  | 33,01 | ABCDE | Pot4  | 33,00 | BC  |
| Cor1  | 30,79 | BCD   | Cor4  | 30,79 | AB   | Cor1  | 33,00 | ABCDE | Pot2  | 31,00 | BCD |
| Pot6  | 30,09 | BCD   | Cor2  | 28,79 | ВС   | Pas6  | 31,01 | BCDE  | Pot5  | 30,80 | BCD |
| Pas4  | 28,79 | BCDE  | Pas7  | 26,08 | BCD  | Cor4  | 28,09 | CDE   | Pot3  | 30,79 | BCD |
| Pas5  | 28,79 | BCDE  | Cor3  | 23,88 | BCD  | Pot6  | 26,06 | DEF   | Pas4  | 28,78 | CDE |
| Pas7  | 28,79 | BCDE  | Pot2  | 23,88 | BCD  | Pas7  | 23,86 | EFG   | Pas9  | 28,28 | CDE |
| Pot2  | 28,78 | BCDEF | Cor1  | 23,87 | BCD  | Pas10 | 23,86 | EFG   | Pas10 | 28,08 | CDE |
| Pot5  | 28,78 | BCDEF | Pot3  | 23,86 | BCD  | Cor3  | 23,36 | EFG   | Pas7  | 26,57 | CDE |
| Pas6  | 26,57 | BCDEF | Pas2  | 23,85 | BCD  | Pas2  | 23,35 | EFG   | Cor1  | 21,14 | DE  |
| Pot4  | 23,87 | CDEF  | Pot1  | 21,15 | BCDE | Pas8  | 16,90 | FG    | Pot1  | 21,14 | DE  |
| Pas2  | 23,86 | CDEF  | Pas4  | 21,13 | BCDE | Pot1  | 14,20 | GH    | Pas8  | 21,13 | DE  |
| Cor4  | 23,85 | CDEF  | Pas8  | 19,64 | CDE  | Pas4  | 14,19 | GH    | Cor3  | 19,64 | EF  |
| Pas8  | 21,14 | DEF   | Pas5  | 16,90 | DE   | Pas5  | 14,19 | Н     | Pas2  | 19,63 | EF  |
| Pas1  | 18,42 | EF    | Pot6  | 12,69 | EF   | Pot3  | 14,19 | Н     | Pot6  | 18,42 | EF  |
| Cor3  | 18,41 | F     | Pas1  | 5,74  | F    | Pas1  | 5,74  | Н     | Pas1  | 9,96  | F   |

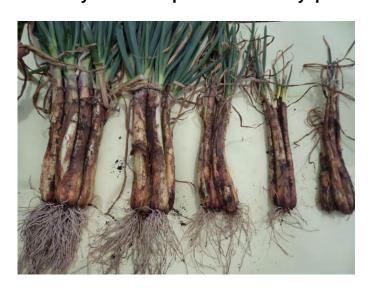
Valores con la misma letra no representan diferencias significativas entre sí (Tukey (p≤0,05))

Para la cepa TPot3 de *Trichoderma*, los clones Pas3 y Cor2 con 43,08 y 41,15% presentan los mayores porcentajes de incidencia.

En la cepa TPot5 de *Trichoderma*, el clon Cor2 con 45,00% presenta el mayor porcentaje de incidencia. El clon Pas1 se encuentra entre los que presentan los menores porcentajes de incidencia de *Fusarium oxysporum* para el testigo y las tres cepas de *Trichoderma* (Tabla 10).

De acuerdo con los síntomas observados en las hojas, raíces y tallos de las plantas cosechadas y el cultivo e identificación del agente causal en laboratorio, se pudo determinar que la pudrición de raíces y base del tallo y posterior marchitamiento y amarillamiento de las hojas de los clones evaluados es causada por el hongo *Fusarium oxysporum* (Imagen 6).





Al respecto Ortega (2004) y Botina y Yarpaz (2008) mencionan que uno de los problemas fitosanitarios mas limitantes en el cultivo de cebolla de rama en los municipios productores del departamento de Nariño (Pasto, Potosí y Córdoba) es la pudrición húmeda del sistema radical y posterior avance a la base del tallo, patología que se le atribuye 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.

Hio y Martinez (2013) afirman que en ataques tempranos, la planta se observa con un crecimiento reducido. Se pueden observar raíces con la enfermedad, las cuales se colorean de pardo claro al principio, perdiendo turgencia y luego mueren. En el seudotallo es posible observar, tanto en las hojas carnosas como en la base, pequeñas pústulas de color castaño rojizo o de tonalidad herrumbrosa. Estas se pueden distribuir por todo el seudotallo en número variable. A medida que la enfermedad progresa, el micelio del patógeno puede invadir gran parte de la planta, que luego se torna parduzca, al tiempo que se deshidrata, generando una podredumbre seca.

Apaza et al. (2002) encontraron diferentes reacciones de materiales genéticos de cebolla a la infección por *Fusarium oxysporum* f.sp. cepae pero se desconoce el mecanismo exacto de la resistencia. En algunos casos, la resistencia proviene de genes de otras especies de *Allium*, como el caso de cultivares que son híbridos con *Allium fistulosum*. Los mismos autores manifiestan que dentro de la evaluación de cultivares de cebolla de bulbo se encontró el cultivar Atena con menor porcentaje de mortalidad (16,67%) comportándose como resistente.

Por su parte Robinowich y Brewster (1990) observaron desarrollo de la enfermedad en todos los cultivares de cebolla probados y afirman que posiblemente la resistencia a *F. oxysporum* de las cebollas y en general de las alliaceas es expresada por genes menores, es decir no se trata de una resistencia monogénica sino poligénica. Granados (2004) menciona que se han hecho estudios para evaluar la resistencia de la cebolla ante la infección por *Sclerotium cepivorum* y se encontró que ninguno de los cultivares evaluados es inmune a la infección por pudrición blanca, además menciona que los cultivares comerciales difieren significativamente en su susceptibilidad y rendimiento en presencia de niveles de inoculo altos y uniformes. Estas diferencias pueden ser debidas a las condiciones ambientales y/o variaciones en el patógeno.

García et al. (2006) aislaron una cepa de *Trichoderma harzianum* de un suelo de tradición ajera, la cual presentó alta capacidad antagónica contra los hongos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* sp., *Plasmodiophora brassicae* y *Phytophthora* sp., y lograron reducciones de la incidencia de las enfermedades superiores al 25%.

Harman y Nelson (1994) observaron que aplicaciones de *Trichoderma harzianum* en semillas de melón redujo la incidencia de *F. oxysporum* de un 46,3% a un 37,5%. García *et al.* (2002) en aplicaciones de *Trichoderma harzianum* para controlar *Rhizoctonia solani* en papa lograron reducir la incidencia de la enfermedad de 55,10% en el testigo a 26,40% en los tratamientos con *Trichoderma*.

**3.2.7. Rendimiento.** En el tratamiento sin *Trichoderma* sp. los clones Pas8, Pas2, Cor4, Pas5 y Pot2 con 44,03; 43,23; 42,10; 38,40 y 37,66 t.ha<sup>-1</sup> presentaron los más altos rendimientos. El clon con el menor rendimiento fue el Cor2 con 14,46 t.ha<sup>-1</sup>.

Los clones Pas8 y Pas5 con promedios que oscilan entre 58,23 y 47,83 t.ha<sup>-1</sup> presentan los más altos rendimientos en las interacciones con las cepas TCor4 y TPot3 de *Trichoderma* sp.

Para la cepa TCor4 los clones Pas6 con 12,56 y Cor4 con 24,34 t.ha<sup>-1</sup> presentan los más bajos rendimientos y para la cepa TPot3 los más bajos rendimientos se presentan con los clones Pas3 y Cor2 con 12,58 y 16,27 t.ha<sup>-1</sup>.

En la interacción de los clones de cebolla de rama con la cepa TPot5 de *Trichoderma* sp. se observa el más alto rendimiento con los clones Cor3 y Pot6 con 50,23 y 49,58 t.ha<sup>-1</sup> respectivamente. El menor rendimiento promedio se determinó para los clones Cor2, Pas3 y Cor4 con 17,87; 17,91 y 19,50 t.ha<sup>-1</sup> respectivamente (Tabla 11).

Tabla 11. Comparación de promedios para rendimiento en t.ha-1 de 20 clones de cebolla de rama con la aplicación de 3 cepas de Trichoderma y el testigo sin Trichoderma

| TEST  | IGO   |      | TCor  | 4     |     | TPot  | 3     |      | TPot: | 5     |       |
|-------|-------|------|-------|-------|-----|-------|-------|------|-------|-------|-------|
| Pas8  | 44,03 | Α    | Pas8  | 58,23 | Α   | Pas5  | 55,90 | Α    | Cor3  | 50,23 | Α     |
| Pas2  | 43,23 | Α    | Pas5  | 52,67 | Α   | Pas8  | 47,83 | AB   | Pot6  | 49,58 | Α     |
| Cor4  | 42,10 | AB   | Cor2  | 49,49 | AB  | Pot3  | 47,64 | AB   | Pot1  | 45,73 | AB    |
| Pas5  | 38,40 | ABC  | Pot5  | 39,97 | BC  | Pot1  | 43,70 | ABC  | Pas2  | 45,04 | ABC   |
| Pot2  | 37,66 | ABC  | Pas2  | 38,98 | BCD | Pas1  | 43,51 | ABC  | Pas8  | 41,74 | ABCD  |
| Cor3  | 34,63 | ABCD | Pas10 | 38,26 | BCD | Pas10 | 43,42 | ABC  | Pas1  | 41,37 | ABCD  |
| Pas4  | 34,62 | ABCD | Cor1  | 38,19 | BCD | Pas7  | 42,02 | BCD  | Pas9  | 39,02 | ABCDE |
| Cor1  | 34,56 | ABCD | Pot4  | 36,61 | CD  | Pas2  | 39,55 | BCD  | Pot3  | 34,90 | BCDEF |
| Pot1  | 30,10 | BCDE | Pot6  | 35,77 | CDE | Pot6  | 38,64 | BCDE | Pot5  | 33,44 | BCDEF |
| Pot5  | 29,92 | BCDE | Pas1  | 35,64 | CDE | Pot2  | 34,79 | CDEF | Pas4  | 32,64 | CDEF  |
| Pot4  | 29,85 | BCDE | Cor3  | 35,32 | CDE | Pas6  | 34,04 | CDEF | Pot2  | 29,97 | DEFG  |
| Pas7  | 29,26 | CDE  | Pas4  | 34,55 | CDE | Cor4  | 32,98 | CDEF | Pas10 | 27,12 | EFG   |
| Pas6  | 29,13 | CDE  | Pot3  | 33,44 | CDE | Pas4  | 30,56 | DEF  | Pas7  | 26,61 | EFG   |
| Pot6  | 29,12 | CDE  | Pot1  | 32,97 | CDE | Cor3  | 30.31 | DEF  | Pot4  | 25,24 | FG    |
| Pot3  | 25,11 | DEF  | Pot2  | 32,36 | CDE | Pot5  | 30,13 | DEF  | Cor1  | 24,42 | FG    |
| Pas1  | 24,90 | DEF  | Pas9  | 28,70 | CDE | Pot4  | 27,07 | EFG  | Pas5  | 23,99 | FG    |
| Pas9  | 23,28 | DEF  | Pas3  | 27,49 | DE  | Cor1  | 24,80 | FGH  | Pas6  | 23,75 | FG    |
| Pas10 | 21,63 | EF   | Pas7  | 26,97 | DE  | Pas9  | 17,36 | GH   | Cor4  | 19,50 | G     |
| Pas3  | 20,79 | EF   | Cor4  | 24,34 | EF  | Cor2  | 16,27 | GH   | Pas3  | 17,91 | G     |
| Cor2  | 14,46 | F    | Pas6  | 12,56 | F   | Pas3  | 12,58 | Н    | Cor2  | 17,87 | G     |

Valores con la misma letra no representan diferencias significativas entre sí (Tukey (p≤0,05))

Este aumento en el rendimiento en los clones de cebolla de rama tratados con las cepas de *Trichoderma* sp. puede ser debido a varias causas. Harman *et al.* (2004) sugieren que la presencia de *Trichoderma* en los suelos induce las hormonas de crecimiento y cambios en el metabolismo vegetal.

Gravel *et al.* (2007) reportan que la producción del ácido indolacético en la raíz de tomate se incrementó con la presencia de *T. atroviride*, dando como consecuencia una mayor ganancia de biomasa. Por otro parte *Trichoderma* podría ayudar a solubilizar, absorber y translocar varios nutrientes que se encuentran en el suelo, tales como fósforo y nitrógeno elementos esenciales para las plantas. Lorito *et al.* (1998) manifiestan que *Trichoderma* puede inducir incremento en el peso de las plantas.

Méndez (2006) obtuvo mayor rendimiento de lechuga comercial al ser tratada con *Trichoderma* sp. Gonzales *et al.* (1999) mencionan que *Trichoderma harzianum* influye significativamente sobre el incremento de la masa fresca, de plantas de tomate. Fernández *et al.* (2009) aplicaron *Trichoderma* para controlar *Fusarium oxysporum* en Jitomate y lograron obtener rendimientos altos.

Imagen 7. Clones de cebolla de rama sanos y afectados por Fusarium oxysporum.



En general se puede observar que el rendimiento es una variable que depende del porcentaje de incidencia de *Fusarium oxysporum* y del número y peso de tallos y existe una compensación entre estas dos últimas variables (Imagen 7). Al respecto Carrera *et al.* (2009) mencionan que plantas de cebollín con muchos hijuelos no alcanzan el grosor y tamaños adecuado a las exigencias del consumidor.

Finalmente podemos anotar que el análisis de resultados muestra diferencias estadísticas significativas entre los clones de cebolla evaluados en función de su tolerancia o reacción a *Fusarium oxysporum*. De igual manera las cepas de *Trichoderma* sp. presentan diferencias en su efecto antagónico contra *Fusarium oxysporum* y en su interacción con los diferentes clones de cebolla de rama. En las variables número de seudotallos por planta, peso de seudotallos, peso de plantas, peso de hojas por planta, peso de raíces por planta, porcentaje de incidencia y rendimiento se pudo observar que existen interacciones entre cepas de *Trichoderma* sp. y clones de cebolla de rama.

Al respecto podemos afirmar que la diversidad genética de los clones de cebolla de rama y de las cepas de *Trichoderma* sp. puede estar generando diferencias en su resistencia o tolerancia de los clones de cebolla de rama al ataque de *Fusarium oxysporum* y de igual manera diferencias en el antagonismo de las cepas de *Trichoderma* sp. contra *Fusarium oxysporum*. Estas diferencias en el antagonismo pueden estar determinadas por la existencia de cepas nativas mas adaptadas a las condiciones agroecológicas de la región y además algunas cepas pueden contar con la capacidad conjunta de biocontrol y biofertilización como lo afirman Michel *et al.* (2001). Además dentro del estudio no se determinó la o las especies de *Trichoderma* sp. que estábamos evaluando.

Varios factores genéticos asexuales como la recombinación parasexual, mutación y otros procesos contribuyen a la variación entre los núcleos en un solo organismo. Así, los hongos son altamente adaptables y evolucionan rápidamente. Hay una gran diversidad de genotipos y fenotipos de cepas silvestres (Romero *et al.*, 2009).

En cuanto a las diferencias en la reacción de los clones frente a *Fusarium* y su control o manejo con *Trichoderma* puede haber estado influenciado como lo mencionamos anteriormente con la constitución genética o propiedades intrínsecas de los clones de cebolla de rama.

## **CONCLUSIONES**

La metodología de evaluación *in vitro* por crecimiento micelial y halo de inhibición resultó eficaz para seleccionar cepas antagónicas de *Trichoderma* sp. para su evaluación en campo. Para este estudio las cepas TCor4, TPot3 y TPot5 presentaron el mejor comportamiento antagónico contra *Fusarium oxysporum*.

Entre los clones de cebolla de rama (*Allium fistulosum*) evaluados no se encontró resistencia a *Fusarium oxysporum* pero existen diferentes niveles de tolerancia a este fitopatógeno, destacándose los clones Cor3, Pas1, Pas8, Cor4, Pas2 y Pot4. Aplicaciones de las cepas TCor4, TPot3 y TPot5 de *Trichoderma* disminuyeron el porcentaje de incidencia del hongo *Fusarium oxysporum* e incrementaron el rendimiento de los clones de cebolla de rama evaluados en comparación con el testigo, por ejemplo los clones Pas8 yPas5 con las cepas TCor4 y TPot3 y los clones Cor3 y Pot6 con la cepa TPot5 presentaron los más altos rendimientos.

Los resultados indicaron que el hongo *Fusarium oxysporum* tiene efecto deletéreo sobre el rendimiento de la cebolla de rama.

## RECOMENDACIONES

Evaluar los clones Pas8 y Pas5 de cebolla de rama (*Allium fistulosum* L.) con las cepas TCor4 y TPot3 de *Trichoderma* sp. y los clones Cor3 y Pot6 con la cepa TPot5 de *Trichoderma* sp. en dos o más ciclos de cultivo y en diferentes localidades.

Evaluar los clones Cor3, Pas1, Pas8, Cor4, Pas2 y Pot4 en fincas de productores de cebolla de rama sin la aplicación de *Trichoderma* sp. y en dos ciclos de cultivo y diferentes localidades.

Implementar un programa de producción de "semilla" con buenas características fitosanitarias para ser entregada a los agricultores productores de cebolla de rama del departamento de Nariño.

# **BIBLIOGRAFÍA**

ACEVEDO, R. y ARCIA, A. 1989. Especificidad de *Trichoderma* sp. en el control biológico de *Sclerotium cepivorum* Berk. in vitro. Fitopatol. Venez: 2(2): 56.

AGAMEZ, R. E. 2009. Evaluación del antagonismo y multiplicación de *Trichoderma* sp. en sustrato de plátano en medio líquido estático. Acta Biológica Colombiana: 14(3): 61-70.

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

ALATOMARE, C., NORVELL, W., BJORKMAN, W. and HARMAN, B. 1999. Soubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. Applien and Environmental Microbilogy 65: 2926-9233.

ALEXOUPOLUS, C. J. and BLACKWELL, M. 1996. Intructory miclology. New York: Willey y Sons. 378p.

APAZA, W. y MATTOS, L. 2002. Reacción de cultivares de cebolla a la pudrición del disco basal causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*. Anales científicos UNALM. p. 304-312.

APODACA, M. A., ZABALETA, M. E., OSADAÑ, K. S., GARCIA, E. R. y ARBELAEZ, G. 1987. Fungal and bacterial disease on Carnation in Colombia. Acta Horticulturae. 216: 151-177.

BADII, M. F. y ABREU J. L. 2006. Control biológico una forma sustentable de control de plagas. Daena: International Journal of Goor Conscience:1(1): 82–89. BISSET, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma* spp., infrageneric classification. Canadian Journal of Botany: 69: 2357-2372.

BOOTH, C. 1977. The genus *Fusarium*. Surrey. England: Commonwealth Mycological Institute. 18p.

BORRERO, C. A. y SILVA, H. M. 2005. Efectos de *Trichoderma* (in Vitro) en los microorganismos no patógenos descomponedores de la materia orgánica de un suelo oxisol clase IV del piedemonte llanero. Revista Orinoquía: 9 (2): 6 – 14.

BOTINA, E. y YARPAZ, J. 2008. Evaluación de *Trichoderma* sp. sobre el hongo *Fusarium oxysporum* causante de la pudrición radical en cebolla de rama (*Allium fistulosum*) en el departamento de Nariño. (Tesis de pregrado). Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas. 65 p.

CALLE, B. J. 2005. Caracterización morfológica y molecular de hongos fitopatógenos de suelo e identificación de bacterias foliares en el cultivo de cebolla. Tesis de Maestría. Universidad de Puerto Rico. p. 3-7.

CARRERA, A., GIL, R. y FARIÑAS, J. 2009. Evaluación agronómica de siete clones de cebollín (Allium fistulosum L.) durante tres ciclos de cultivo, en el municipio de Caripe, estado Monagas. Venezuela. INIA. 491-497 p.

CARSOLIO, C., BENHAMOU, N., CORTES, C., GUTIERREZ, A., CHET, I. and HERRERA, E. 1999. Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitim, Appl. Environ Microbiol: 65:929-935.

CHANG, Y., BAKER, R., KLEIFELD, O and CHET, I. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant Dis., 70: 145-148.

CHET, I. y BENHAMOU, SH. 1998. Mycoparasitism and lectin enzymes. In: *Trichoderma* y *Gliocladium*: Enzymes, biological control and commercial applications. Harman GE, Kubice CP. (Eds.). Taylor y Francis Ltd., London, UK. . Volumen 2. p. 152-153.

CORPORACION COLOMBIANA DE INVESTIGACION AGROPECUARIA, CORPOICA. 2004. La cebolla de rama (*Allium fistulosum*) y su cultivo. 38 p.

CUNDOM, M. A. y MAZZA DE GALAD, S. 2000. Actividad antagónica in vitro de aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. 200 p.

CUPULL, S. R., ANDREU, R. C., PEREZ, N. C., DELGADO, P. Y. y CUPULL, S. M. 2003. Efecto de *Trichoderma viride* como estimulante de la germinación, en el desarrollo de posturas de cafetos y el control de *Rhizoctonia solani Kuhn*. Centro Agrícola: 30(1): 21-24.

CRUZ, M., CISTERNA, O. 1998. Control integrado de *Phytophthora capsici* en pimiento. Agricultura técnica. 58 p.

DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADISTICA, DANE. 2011. Resultados Encuesta Nacional Agropecuaria, ENA. Colombia. 181 p.

DIAZ, J. 1994. Algunos conceptos biológicos de *Trichoderma* y su posible uso como biocontrol. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria de la Habana. 58 p.

DIMATE, M., VILLA, J. J., y WILLS, U. F. 1996. *Trichoderma harzianum* como antagonista de *Fusarium oxysporum*. resultados en un cultivo de claveles estándar en la Sabana de Bogotá. Agricultura Trop.: 33(3): 71-74.

ERASO, C.Y ACOSTA, J. 2013. Evaluación de cepas de *Trichoderma* sp. para el manejo del amarillamiento de arveja (*Pisum sativum* L.) en Nariño. (Tesis de pregrado). Pasto: Universidad de Nariño. Fac. de Ciencias Agrícolas. 59 p.

ESPINO, M. y STEFANOVA, M. 2006. Colonización por *Trichoderma harzianum* en diferentes sustratos para el sistema de cepellón en el cultivo de tabaco. Fitosanidad: 10(2): 178.

FERNANDEZ, B. R. y SUAREZ, M. C. 2009. Antagonismo in Vitro de *Trichoderma harzianum Rifai* sobre *Fusarium oxysporum Schlecht f.sp. pasiflorae* en maracuyá (*Passiflora edulis Sims var. Flavicarpa*) en municipios de la zona bananera colombiana. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín. 62(1): 4743-4748.

FERNANDEZ, H. E., PINTO, V. M., RAMOS, M. A. y GONZALEZ, F. P. 2009. Manejo biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum Schlechtend* 

- y *Rhizoctonia solani* Kuhn en Jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología: 25(1): 35-42.
- FERNANDEZ, O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo integrado de plagas (Costa Rica): 62: 96–100.
- GALVAN, G. 2009. Resitenct to *Fusarium* basal rot and response to arbuscular mycorrhizal fungi in *Allium*. Thesis Wageningen University, Wageningen, the Netherlans. 160 p.
- GARCES, E., OROCO, M., BAUTISTA, G. y VALENCIA, H. 2001. *Fusarium oxysporum* el hongo que nos falta conocer. Acta Biol. Colombiana: 6(1): 2.
- GARCIA, C. D., PRIOLETTA, S. M. y BELLACCOMO, M. C. 2000. Búsqueda de variedades e híbridos en cebolla de buen comportamiento frente a la podredumbre basal causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. p. 1-4.
- GARCIA, R. GARCIA, A. y GARNICA, J. 2002. Distribución, incidencia y alternativas de control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de la papa en el estado de Mérida, Venezuela. Rev. Latinoamericana de la papa 13(1):24-40.
- GARCIA, R., RIERA, R., ZAMBRANO, C. y GUTIERREZ, L. 2006. Desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa del hongo *Trichoderma harzianum* proveniente de la región andina venezolana. Venezuela. Fitosanidad. Vol.10 no. 2: 115-121.
- GONZALES, H., GARCIA, G. y LUQUE, M. 1994. Comportamiento de tres variedades de cebolla *Allium cepa* L. en suelo inoculado con los hongos *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen) y *Fusarium oxysporum* (Schlecht). Venezuela. Agronomía Tropical: 44(4): 699-706.
- GONZALES, C. J., MARURI, G J. y GONZALEZ, A. A. 2005. Evaluación de diferentes concentraciones de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium oxysporum* agente causal de a pudrición de plántulas en papaya (*Carica papaya* L.) en Tuxpan, Veracruz, México. Revista UDO agrícola: 5(1): 45-47.

GONZALES, C., RODRIGUEZ, L., ARJONA, C., PUERTAS, A. y FONSECA, M. 1999. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* R. sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizosfera de solanáceas y su influencia en el crecimiento vegetativo. Cuba. Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg. Vol. 14 (1-2).

GRANADOS, M. 2004. Aislamiento, identificación y evaluación del efecto antagonista de hongos asociados a esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, causante de la pudrición blanca de la cebolla, en la zona alta de Cartago, Costa Rica. (Tesis de posgrado). Costa Rica: Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". 105p.

GRAVEL, V., ANTOUN, H., RUSSELL, J., WEDDELL, T. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). Soil Biology and Biochemistry. 39: 1968-1977.

HARMAN, G. E. 2000. The Myths and Dogmasof Biocontrol: Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* Strain T-22.Plant Disease: 84 (4): 377-393

HARMAN, G. and NELSON E. 1994. Mechanisms of protection of seed and seedlings by biological control treatments: Progress and prospects. T. Martin, ed. British Crop Protection Council, Nottingham, England, UK. 64 p.

HARMAN, G. 2002. *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum*. Cornell University, Geneva, N.Y. (Consulta: 23 ene. 2013). www. licasaninet.net/pub/ sanueg/html.

HARMAN, G. 2004. Mythos and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derive from research on *Trichoderma harzianum* T22. Plant. Dis. 84: 377-393.

HARAM, S., SCHICKLER, H. y CHET, I. 1996. Molecular mechanisms of lictin enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. Microbiology: 142: 2321-2331.

HIO, J. y MARTINEZ, E. 2013. Manual de la cebolla de rama: enfermedades de impacto económico en la cebolla de rama (*Allium fistulosum* L.) en Colombia. CORPOICA. p. 66-82.

HJELJORD, L. y TRONSMO, A. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. Kubice Cp. p. 131-151.

INFANTE, D., MARTINEZ, B., GONZALEZ, N. y REYES, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Revista de Protección Vegetal: 34(1): 1-9.

JAIMES, S. Y., MORENO, V. C. y CORTES, P. A. 2009. Inducción de resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporum* en tomate por *Trichoderma koningiopsis* Th003. Acta biológica Colombia: 14 (3): 111 – 120.

JARAMILLO, J., PALACIOS, Y. y OSORIO, J. 1996. El cultivo del ajo y las cebollas en Colombia. ICA-CORPOICA, PRONNATA. p. 9 -108.

JIMÉNEZ, T. F. y AGRAMONTE, P. D. 2002. Uso de agentes biológicos para el control fitosanitario en la producción de minitubérculos de papa en condiciones de aclimatización. Biotecnología vegetal: 2(4): 217–220.

KLEIFELD, O., and CHET, I. 1992. *Trichoderma harzianum*. Interaction with plants and effect on growth response. Plant and Soil: 144: 267-272.

KRARUP, H. 1984. Organización de la variabilidad genética en poblaciones de plantas. In: Tesis de Maestría. Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Chapingo. México. 146 p.

LACY, L. y ROBERTS, D. 1982. Yields of onion cultivars in Mid-western organic soils infested with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and *Pyrenochaeta terrestris*. Plant: 66: 1003 – 1006.

LECUONA, .E. 1996. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Ed. R.E. Lecuona, Argentina, 27p.

LEGUIZAMON, C. y BARRIGA, C. 2001. Enfermedades del ajo (*Allium sativum* L.) en Cundinamarca y Boyacá. Noticias fitopatológicas: 3(1): 4-19.

LORITO, M., HARMAN, G., PRIETO, A. y HAYES, C. 1998. Extracellular chitimolytie enzymes produced by *T. harzianum*, purification, characterization and molecular cloning. Phytopathol: 82(10): 10-77.

MARTINEZ, G. E., ALBARRACIN, N., y ARCIA, A. 1995. Pudrición basal del ajo causada por *Fusarium oxysporum*. Agronomía Tropical: 46(3): 265–273.

MARTINEZ, B., REYES, Y., INFANTE, D., GONZALEZ, E., BOLAÑOS, H. y CRUZ, A. 2008. Selección de aislamientos de *Trichoderma spp.* candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. Universidad Agraria de la Habana, Cuba. Rev. Protección Vegetal: 23(2): 118-125.

MARTINEZ, B., FERNANDEZ, L. y SOLANO, T. 1994. Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. Cultivos Tropicales: 15(3):54.

MAXWELL, G. 1984. Mejoramiento de plantas resistentes a insectos. Edit. Limusa. D.F: México. 696 p.

MASELLI, A., GUEVARA, Y. y ASDRUBAL, A. 2000. Reacción de genotipos de girasol (*Helianthus anmuus* L.) a *Pseudomonas syringae* pv. *helianthi*. Revista Mexicana de Fitopatología: 18: 111-114.

MENDEZ, J. 2006. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus* en el rendimiento de lechuga orgánica. Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. Honduras. p. 163.

MICHEL, A., REBOLLEDO, O, LEZAMA, R., OCHOA, M., MESINA, J. y SAMUELS, G. 2001. Especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con mango

afectados por "escoba de bruja" y su potencial inhibitorio sobre *Fusarium oxysporum* y F. *subglutinans*. Revista Mexicana de Fitopatología: 19: 254-267.

MIHUTA-GRIMM L., and ROWE C. 1986. *Trichoderma* spp. as biocontrol agents of *Rhizoctonia* damping-offon radish in organic soil and comparison of four delivery systems. Phytopathol: 76(3): 306-312.

MONACO, C., PERELLO Y ROLLAN, M. 1994. Ensayo *in vitro* del comportamiento antagónico de *Trichoderma* sp. frente a espécies patógenas de La zona hortícola de La Plata, Argentica. Microbiol. p. 423 – 428.

MONTES, B, R. NAVA J. R. y FLORES, H. E. 2009. Hongos y nematodos en raíces y bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) en el estado de Morelos, México. Revista Mexicana de Fitopatología: 21(003): 300-304.

MUIÑO, B. L., SAENZ, M., STEFANOVA, M., PORRAS, A, y DIAZ, I. 2006. Compatibilidad de *Trichoderma* spp. con plaguicidas y fertilizantes en el cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). Fitosanidad: 10(2): 153

MUÑOZ, L. A. y LUCERO, A. M. 2007. Evaluación de la asociación ácaros-hongos causantes del amarillamiento de la cebolla junca *Allium fistulosum*. Revista Colombiana de Entomología: 33(2):1-7.

NICO, A. y GONZALEZ, M. 2006. Enfermedades de la cebolla provocadas por patógenos de suelo. Dossier Hortícolas. Vida Rural. .

ORIETA, F. y LARREA, V. 2001. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos CATIE. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 62. p. 96 -100.

ORTEGA, J. R. 2004. Caracterización del complejo hongos – ácaros causantes del secamiento de la cebolla junca (*Allium fistulosum* L.), en el Corregimiento de Buesaquillo, Municipio de Pasto – Nariño. (Tesis de pregrado). Pasto: Universidad de Nariño. Fac. de Ciencias Agrícolas. 51 p.

PAEZ, V. M. y SANABRIA, N. 2007. Evaluación de la capacidad antagónica de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. Rev. Fav. Agron. (Luz): 24(1): 27 – 31.

PEREZ, V. L., BATLES, V. A., CHACON, B. J. y MONTENEGRO, M. V. 2009. Eficacia de *Trichoderma harzianum* A34 en el biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal de la marchitez por *Fusarium* o mal de panamá de lo bananos en Cuba. Fitosanidad: 13(4): 259 – 263.

PEREZ, N. 2004. Manejo ecológico de plagas. CEDAR: La Habana. Cuba. 296p.

PICCOLO, R. J. 2005. Introducción de resistencia a enfermedades causadas por hongos de suelo, en especial a raíz rosada y a la podredumbre basal causada por *Fusarium* spp. Universidad Nacional de Cuyo. Informa Anual de Progresos. 123 p. PINZON, H. 2004. La Cebolla de Rama (*Allium fistulosum*) y su Cultivo. Tibaitata: Corpoica. 54 p.

POINAR, G. y BUKLEY. 2007. Evidence of mycoparasitism and bypermycoparasitism in Early Cretaccous amber. MycobiologicalPresearch 111: 503-506.

QUIROZ, S. V., FERRERA, C. R., ALARCON, A., y LARA, M. E. 2008. Antagonismo in vitro de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo de ajo. Revista Mexicana de Micología: 26: 27-34.

RABINOWITCH. H., and BREWSTER, J. 1990. Onions and Allied Crops. Vol. 2. Agronomy Biotic Interactions, Pathology and Crop Protection, Florida, USA. 320p.

RAMIREZ, O. L. 2009. Producción de celulasas a partir del hongo *Trichoderma sp.* y aprovechamiento de la fibra prensada en palma como medio de cultivo. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. p 56.

REDDY, M.S., HYNES, R. K., and LAZAROVIST, G. 1994. Relationship between in vitro growth inhibition of pathogens and suppression of preemergence dampingoff and postemergence root rot of white bean seedlings in the greenhouse by bacteria. Canadian Journal of Microbiology 40:113-119.

RIOS, W. F. y CASTRO C. R. 2002. Efecto de la densidad de población y la tasa de siembra sobre el rendimiento y calidad de la cebolla de rama *Allium fistulosum* L. en la granja Tesorito (Manizales). Agronomía: 10(1): 21-30.

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

ROMERO, O., HUERTAS, M., DAMIAN, M., DOMINGUEZ, F. y ARELLANO, P. 2009. Características de *Trichoderma harzianum* como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. CONACYT. 11 p.

SAMUELS, G. 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematic of the genus. Mycol Res: 100(8):923-935.

SCHWARTZ, H. F., y MOHAN, S. J. 1995. Compendium of Onion and Garlic Diseases. Américan Phytopathological Society. APSPress. St. Paul, Minnesota, USA. p. 54.

SEMICOL S. A. Semillas Colombianas: Cebolla de rama. Octubre, 2010.

SID, A. PEREZ,C. EGEA, C. y CANDELA, M. 1999. Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root caused by *Phytophthora capsici* en pepper plants. Plant pathology 48: 58-65.

STEFANOVA, M., LEIVA, A., LARRINAGA, M. y CORONADO, F. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Rev. Fac. Agronomía: 16: 509-516.

TRONSMO, A. y RAA, J. 1997. Antagonistic action of *Trichoderma pseudokoningii* against the apple pathologen *Botrytis cinerea*. Phytopathology: 77: 303.

VERO, S. 1999. Mondino P. Control biologic postcosecha en Uruguay. Horticultura Internacional: 7: 1-10. .

YEDIDIA, I., BENHAMOU, N. and CHET, I. 1999. Induction of defens responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by biocontrol agent *Trichoderma harzianum*, Appl. Environ. MIcrobiol. 65:1061-1070.

YEDIDIA, I., SRIVASTVA, A., KAPULNIK, Y. and CHET, I. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentration and increased growth of cucumber plants. Plant and Soil. 235:235-242.

# ANEXOS

Anexo A. Resultados de análisis de suelos

| Ph                         | Materia<br>orgánica        | Fósforo<br>disponible | Capacidad de intercambio catiónico | Calcio de cambio           |
|----------------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------------------|----------------------------|
| 6,40                       | 3,14%                      | 330 mg/kg             | 14,2 cmol <sup>+</sup> /kg         | 11,3 cmol <sup>+</sup> /kg |
| Magnesio de cambio         | Potasio de cambio          | Hierro                | Manganeso                          | Cobre                      |
| 1,66 cmol <sup>+</sup> /kg | 0,95 cmol <sup>+</sup> /kg | 246 mg/kg             | 31,5 mm/kg                         | 5,95 mm/kg                 |
| Zinc                       | Boro                       | Nitrógeno<br>total    | Carbono<br>orgánico                | Azufre<br>disponible       |
| 7,44mg/kg                  | 0,68 mg/kg                 | 0,12%                 | 1,82%                              | 13,3 mg/kg                 |
| Grado Textural             | Densidad aparente          |                       |                                    |                            |
| Arcillo-arenoso            | 1,21 g/cc                  |                       |                                    |                            |

Fuente: Laboratorio de suelos, Universidad de Nariño.