" EFECTO DE LA APLICACION DE *Trichoderma harzianum* EN LA INCIDENCIA DE *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani* Kühn Y *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* EN COLIFLOR Y PEPINO COHOMBRO "

J. RICARDO GALINDO P.
GABRIEL HERNANDEZ A.

" Tesis de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo "

Director de Tesis: GERMAN ARBELAEZ T., I. A., M. S.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
BOGOTA, D.E. 1986

Equipo nuevo Ref. 7669

"Este trabajo hace parte de las investigaciones realizadas por la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. Sin embargo, las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente opiniones de la Universidad" .

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA

A Jeannette, con cariño

Ricardo

A quienes no tuvieron la
oportunidad de la educación

Gabriel

A G R A D E C I M I E N T O S

Al Dr. Germán Arbeláez Torres, como director de tesis, por su apoyo y colaboración.

A la Asociación Colombiana de Exportadores de Flores, ASOCOLFLORES, y al Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas, COLCIENCIAS, por su aporte económico para la realización de este trabajo.

A la Dra. Luz Marina Olarte, Microbióloga, ex-jefe encargada del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía, por su asesoría y estímulo, y a la Dra. Xiomara Sinesterra, su sucesora en el cargo.

Y a todos aquellos profesores, estudiantes y trabajadores que de una u otra forma colaboraron en la realización de esta tesis.

CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	4
1. Los patógenos	4
2. Enfermedades y hospedantes	5
2.1 Marchitez vascular	5
2.2 Volcamiento de plántulas	5
2.3 Otras enfermedades	6
3. Epidemiología	7
3.1 Marchitez vascular	7
3.2 Volcamiento de plántulas	9
4. Control biológico	11
4.1 Suelos supresivos	11
4.2 Ocurrencia a nivel mundial	12
4.3 Reconocimiento de un suelo supresivo	13
4.4 Factores que afectan la supresividad del suelo	14
4.4.1 Secuencia de los cultivos	14
4.4.2 Utilización de enmiendas	15
4.4.3 Condiciones del suelo	16

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

4.5 Base biológica de la supresividad 19

4.6 Agentes biológicos para control de patógenos 20

4.7 Mecanismos de control biológico 21

4.7.1 Fungistasis 21

4.7.2 Hiperparasitismo 22

4.7.3. Competencia 22

III. MATERIALES Y METODOS 24

1. Suelo 24

2. Microorganismos utilizados 24

3. Ensayos de control biológico 25

3.1 Hospedantes 25

3.2 Inoculación de los patógenos 25

3.3 Inoculación de los antagonistas 26

3.4 La siembra 28

4. Medición de la enfermedad 28

5. Medición del crecimiento de las plantas 28

6. Efecto de la reacción del suelo 29

IV. RESULTADOS Y DISCUSION 30

1. Elección de hospedantes 30

2. Determinación de la dosis media 31

3. Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum 32

3.1 En la incidencia de las enfermedades 32

3.2 En el desarrollo de la planta 36

3.2.1 Porcentaje de germinación 36

3.2.2 Crecimiento de la planta 36

4. Efecto de la reacción del suelo 38

4.1 En la incidencia de las enfermedades 38

4.2 En el efecto de Trichoderma harzianum 39

4.3 En el control de los patógenos 41

V. CONCLUSIONES 44

Resumen 46

Bibliografía 48

Anexos 56

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Efecto de la aplicación de T. harzianum en el control de Pythium sp en coliflor	33
2	Efecto de la aplicación de T. harzianum en la incidencia de F. oxysporum en pepino cohombro	35
3	Efecto de la aplicación de T. harzianum y Pythium sp. en el desarrollo foliar de las plantas de coliflor	37
4	Efecto de la aplicación de T. harzianum y R. solani en el desarrollo foliar de las plantas de coliflor	39
5	Efecto del pH del suelo en la incidencia de las enfermedades	40
6	Efecto del pH del suelo en la acción de T. harzianum sobre la germinación del coliflor	42

LISTA DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Efecto de la aplicación de T. harzianum en la incidencia de Pythium sp. en coliflor	56
2	Efecto de la aplicación de T. harzianum en la incidencia de R. solani en coliflor	57
3	Efecto de T. harzianum en la incidencia de F. oxysporum en pepino cohombro	58
4	Efecto de la aplicación de T. harzianum y Pythium sp. en el desarrollo foliar del coliflor	59
5	Efecto de la aplicación de T. harzianum y R. solani en el desarrollo foliar del coliflor	60
6	Efecto del pH del suelo en la incidencia de las enfermedades causadas por Pythium sp., R. solani y F. oxysporum	61
7	Efecto del pH del suelo en la acción de T. harzianum sobre la germinación del coliflor	63
8	Efecto de la aplicación de T. harzianum para el control de Pythium sp. en coliflor a 3 niveles de pH	64
9	Efecto de la aplicación de T. harzianum en la	

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

incidencia de R. solani en coliflor, a 3 niveles de pH 65

10 Efecto de la aplicación de T. harzianum y F. oxysporum en la germinación y supervivencia del pepino cohombro 66

11 Efecto de la aplicación de T. harzianum en la incidencia de R. solani en coliflor 67

12 Efecto de la aplicación de T. harzianum en la incidencia de F. oxysporum en pepino 68

13 Efecto de la aplicación de T. harzianum para el control de Pythium sp. en el área foliar del coliflor a 3 niveles de pH 69

14 Efecto de la aplicación de T. harzianum y R. solani en el área foliar del coliflor, a tres niveles de pH 70

INTRODUCCION

El control biológico de muchos patógenos ocurre naturalmente en los denominados suelos supresivos. Se realizan esfuerzos enormes por parte de diferentes investigadores para encontrar, aislar e identificar los organismos que ocasionan la supresividad y transmitirlos a suelos conductivos. Sin embargo, dada la complejidad del suelo como medio donde se desarrollan los sistemas bióticos responsables del fenómeno, es lógico que los progresos en este campo sean lentos y a veces contradictorios (6,15,17,18).

Sin embargo, una vez se logre elucidar el problema, el manejo de las enfermedades causadas por patógenos habitantes del suelo se hará gradualmente más sencillo, y comparado con el control químico, será menos riesgoso e incluso más económico a largo plazo.

Investigaciones anteriores en el control de Rhizoctonia solani utilizando Trichoderma harzianum como antagonista, han demostrado resultados positivos. Los ensayos iniciales lograron re-

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

ducir el nivel de incidencia bajo condiciones de laboratorio en plantas de fríjol(11,17,21,27), rábano(10,22),tomate,berenjena (21), alfalfa y remolacha azucarera (10), además de otras.

Posteriormente se logró cierto grado de control del patógeno bajo condiciones de campo en cultivos de papa(16),clavel(15), crisantemo, petunia(13), maní, fríjol y berenjena(12). También se ha comprobado una reducción en la incidencia de Pythium sp. en plantas de arveja (11,25), y Sclerotium rolfsii en plantas de tomate(20), papa(16), maní, fríjol y berenjena(12) utilizando el mismo antagonista. Los intentos de control de Fusarium oxysporum con esta metodología solo han logrado un retraso en la aparición de síntomas de marchitez en las plantas de pepino (6). Otros antagonistas, especialmente las bacterias Pseudomonas putidae pueden producir mejores resultados en suelos de pH cercano a la neutralidad, según reportan Scher y Baker(33).

En la presente investigación se utilizaron dos aislamientos seleccionados de Trichoderma harzianum para el control de R. solani y Pythium sp. en plantas de coliflor, y Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum en plantas de pepino cohombro. El objetivo fué determinar el grado de control con diferentes dosis del antagonista bajo 3 niveles de pH del suelo. También se evaluó el efecto de la aplicación de T. harzianum en el crecimiento de las plantas mencionadas,debido a que las investigaciones anteriores daban referencia de un mayor desarrollo vege-

tal bajo el tratamiento con el antagonista(6,8,9).

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

II. REVISION DE LITERATURA

1. LOS PATOGENOS

El hongo Fusarium oxysporum Schlecht. & Hans. es un patógeno habitante del suelo del cual se conocen diversas formas especiales. Cuando las condiciones ambientales son desfavorables para el crecimiento y reproducción del hongo, produce clamidosporas en el suelo o sobre material vegetal en descomposición, las cuales se conservan viables por largos períodos de tiempo. (3).

Rhizoctonia solani Kühn se caracteriza por la formación de esclerocios irregulares, que actúan como estructuras de supervivencia. Cuando el hongo habita en el suelo, forma estos esclerocios sobre los desechos orgánicos, dado su comportamiento de saprófito facultativo(3).

Pythyum sp. habita el suelo como saprófito facultativo, con una gran habilidad competitiva. También forma estructuras de supervivencia en la fase sexual, con la producción de oosporas

de pared gruesa (3).

2. ENFERMEDADES Y HOSPEDANTES

2.1 Marchitez Vascular

Se conocen diversas formas biológicas de F. oxysporum especializadas en su patogenicidad a determinados hospedantes, en los cuales produce como síntoma característico la marchitez de la planta. El patógeno actúa por el sistema vascular donde produce compuestos complejos que interfieren en la habilidad de la planta para transportar agua y nutrientes. Esta enfermedad afecta diferemtes tipos de plantas como crisantemo, clavel, pepino cohombro, melón, tomate, etc. (1).

En investigaciones recientes, se ha encontrado que este hongo posee un rango de hospedantes más amplio de lo que se pensaba originalmente, en los cuales puede producir síntomas como la pudrición de raíces, corona y bulbos(32).

2.2 Volcamiento de Plántulas

Los géneros Pythium y Rhizoctonia son agentes causantes del volcamiento de plántulas en semilleros. La afección se presenta antes de la emergencia de plántulas las cuales se pudren o no logran germinar; también en forma post-emergente, en cuyo caso se pudre la base del tallo y las plántulas se doblan. Ambos patógenos pueden causar los dos tipos de síntomas en de-

terminados hospedantes. La infección por R. solani puede no ocasionar volcamiento debido a que algunas plántulas adquieren resistencia o crecen en un medio ambiente favorable donde el tejido cortical es invadido pero no así el sistema vascular. La infección por Pythium también puede consistir en la pudrición de los extremos de las raíces jóvenes, la cual puede avanzar progresivamente al tallo, y si las condiciones son favorables al patógeno, la planta muere (3).

2.3 Otras Enfermedades

Los hongos Rhizoctonia y Pythium causan también la pudrición basal del tallo en diversas plantas. En plantas de clavel, la enfermedad ocasionada por Rhizoctonia se manifiesta como una pudrición en la base del tallo, que usualmente abarca toda la sección transversal, y provoca la marchitez de las hojas y eventualmente la muerte de la planta.

En plantas de crisantemo, además de la pudrición basal causada por Rhizoctonia, puede ocurrir el oscurecimiento de la base del tallo y una súbita marchitez de la planta, causada por Pythium aphanidermatum (Edson) Fitzp y P. debaryanum Hesse (26). Durante el desarrollo de las plantas, si las densidades de inóculo son bajas o las condiciones ambientales son desfavorables, los patógenos habitantes del suelo pueden afectar únicamente el sistema radica l sin que se manifiesten lesiones en las partes aéreas. En este caso los síntomas consisten en una reducción

en el tamaño de la planta, una producción menor o una calidad inferior.

Finalmente, los órganos suculentos de algunas hortalizas, como son los frutos de las cucurbitáceas, las cabezas de col, y los tubérculos de papa, pueden ser infectados en ocasiones por estos hongos durante el almacenamiento y transporte. En tales infecciones, sobre la superficie del órgano afectado se cubre de un micelio algodonoso mientras que el interior se torna húmedo y putrefacto. El hongo causal es Pythium sp.(1).

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

3. EPIDEMIOLOGIA

3.1 Marchitez Vascular

El inóculo de F. oxysporum causante de la marchitez, se puede encontrar en el suelo, desde la superficie hasta profundidades más allá de los 90 cms, según lo registra Farley et al(18). También puede encontrarse en el material de propagación para cultivos de flores, en los cuales permanece sin que inicialmente se detecte ninguna sintomatología visible (26). Las microconidias del hongo pueden ascender por la corriente vascular, lo cual dificulta su detección.

El primer efecto de la infección consiste en una reducción de la tasa de transpiración de la planta, la cual se hace hasta tres veces menor que la de una planta sana con igual suministro de agua, según demostraron Dimond y Waggoner (13) en plan-

tas de tomate.

Cuando el hongo se encuentra en el suelo penetra a su hospedante principalmente por los extremos de las raíces laterales, aunque también puede ingresar a través de las heridas (1,3). El extenso crecimiento radical del hospedante es el principal determinante de las probabilidades de infección (24).

Una vez iniciada la enfermedad, la duración del período de colonización del hospedante estará influído por la temperatura ambiental, y será más corta en el rango comprendido entre los 26 y 32 C, según Hood and Stewart, citados por Casas y Rosero (7). La severidad es mayor en las plantas jóvenes en activo crecimiento, y menor en las plantas de mayor edad, en las cuales no siempre se desarrollan síntomas aún habiendo ocurrido la infección.

La susceptibilidad del hospedante está relacionada con su estado nutricional. Es así como Gasiorkiewicz, citado por Baker(3), observó un incremento en la severidad debido a dosis de nitrógeno altas (150-200 mg/gr de suelo). Ebben, citado por Baker (3), registró una incidencia de la enfermedad más alta cuando se utilizaba úrea como fuente de nitrógeno, mientras que la incidencia era menor cuando se aplicaba nitrato de calcio en suelos de pH alto. Esto pudo deberse al aumento de la resistencia del hospedante a la enfermedad, la cual se estimula por los

niveles de calcio por encima de los requeridos para un buen crecimiento, según Corden y Egington, citados por Baker (3), o porque el pH alto estimula el control biológico en el suelo(3).

3.2 Volcamiento de plántulas

La mayoría de los agentes causales del volcamiento de plántulas limitan su parasitismo principalmente al estado de plántula, lo cual determina el potencial de la enfermedad(3). De acuerdo con las investigaciones de Leach, citado por Wheeler (41), si la velocidad de emergencia de las plántulas aumenta por efectos favorables del medio ambiente, la acción del patógeno será más limitada y la severidad de la enfermedad se reducirá en forma proporcional. Benson y Baker(4) registran que el período de susceptibilidad de los rábanos a la pudrición de semillas a 15 C dura 100 horas, antes de que ocurra un 10 % o menos de incidencia de la enfermedad, mientras que a 26 C dura sólo 40 horas.

Los exudados de la semilla durante la germinación estimulan la germinación de las esporas en reposo, tales como las oosporas de P. mammillatum Barton(2) e influyen en el crecimiento de los hongos en la superficie o a distancia del patio de infección como ocurre también con P. aphanidermatum y R. solani(3). Es así como Weinhold et al,(41),observaron que estos exudados del hospedante, junto con la solución del suelo y el propágulo mismo, constituyen la base nutritiva para el desarrollo de

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

R. solani, y que la cantidad de nutrientes disponibles al patógeno determina su virulencia.

Una siembra profunda priva a las plántulas de luz, y por lo tanto retrasa la producción de carbohidratos durante un período largo antes de la emergencia (3); esto favorece la incidencia del volcamiento de plántulas.

El potencial de la enfermedad en cuanto a su severidad está determinado básicamente por la densidad del inóculo de los patógenos en el suelo. Actualmente se utilizan "pellets" para el muestreo de suelo y conteo de propágulos de R. solani en un medio selectivo(22). El número de propágulos requerido para inducir la enfermedad bajo condiciones favorables es bastante bajo para los hongos que ocasionan el volcamiento de plántulas. La cantidad de inóculo necesario para obtener un 50% de incidencia es comunmente menor a 10 propágulos por gramo de suelo. Además, el tamaño de los propágulos de R. solani influye en la infección, dado que los propágulos grandes tienen energía potencial considerablemente mayor que la que poseen las unidades pequeñas(4).

La humedad del suelo alta (hasta la saturación), aumenta la severidad del volcamiento de plántulas causada por Pythium sp. (40,44). En contraste, la incidencia del volcamiento causado por R. solani comunmente decrece cuando la humedad supera las

2/3 partes de la capacidad de saturación del suelo, como se ha demostrado utilizando tomate y pepino rojo como hospedantes del patógeno (42).

Los principales patógenos que inducen volcamiento crecen bien en valores amplios de pH. Ben son y Baker (4), experimentaron con valores de pH desde 5.3 hasta 7.9 sin hallar diferencias significativas en la incidencia de la pudrición pre-emergente en rábanos causada por R. solani; el pH tampoco afectó la supervivencia del patógeno.

4. EL CONTROL BIOLOGICO

4.1 Suelos Supresivos

La forma natural por la cual un suelo de ciertas características limita el desarrollo de un fitopatógeno o la expresión de la enfermedad en presencia de un hospedante vegetal susceptible, es la supresividad. Este fenómeno ha sido observado a lo largo de años en determinadas regiones del mundo actuando contra patógenos como: F. oxysporum, R. solani, Phytophthora cinnamoni, Streptomyces scabies, Gaeumannomyces graminis, Fomes sp. y otros(2). Lo suelos supresivos pueden dividirse en dos grandes clases, según Tousson, citado por Shipton (36). Una primera en la cual la supresividad es ejercida selectivamente sobre los clones patogénicos más que sobre los nativos saprofíticos, y la segunda, donde tanto los clones saprofíticos como los patogé-

nicos son suprimidos.

De los dos tipos de supresividad, el primero es el más clásico y frecuente. Los ensayos realizados en estos suelos demuestran que el grado de especificidad puede variar, por lo cual se presentan suelos donde la supresividad está comprobada sólo para una raza de determinado patógeno, y otros donde esta supresividad se manifiesta contra un amplio rango de razas o de patógenos.

La segunda clase de suelos supresivos es característica de los suelos de bosque, cuando el ecosistema ha logrado su estado clímax. Para conservar los suelos en esta condición se requieren ciertas prácticas modificadas para minimizar las alteraciones del medio y conservar el equilibrio biológico estable.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

4.2 Ocurrencia a Nivel Mundial

Van Emden y B. Schipper en Holanda citados por Shipton(36), han reconocido suelos donde R. solani ataca rara vez en forma severa, aún bajo cultivos intensivos de papa, y otros donde la enfermedad es regularmente severa. Las diferencias se relacionan con la misma diversidad de la flora fungosa de los suelos. Chet y Baker(11) demostraron la existencia de suelos supresivos a R. solani en áreas de Rionegro, Antioquia. Estos suelos no permiten la aparición de la enfermedad aunque no se realizen prácticas de control.

Smith y Snyder, citados por Scher y Baker (11), informaron de la existencia de suelos supresivos a Fusarium en el Valle de Salinas de California. Allí, no obstante grandes cultivos de una amplia variedad de plantas, la marchitez vascular ocasionada por F. oxysporum no ocurre (Smith, 38). Linderman(29) menciona la presencia de suelos supresivos a Fusarium en la región de Chateaurenard Rhone Valley de Francia.

Si hay supresividad en un suelo, la enfermedad no se manifestará durante un período largo de tiempo. Shipton (36), observó que los suelos resistentes a la marchitez causada por F. oxysporum f. sp. cubense se mantuvieron libres de la enfermedad durante 25 años o más, mientras que los suelos de vida corta o no resistentes sólo duraron 3 a 5 años sin enfermedad.

Estos son sólo unos pocos casos que sirven a manera de ejemplo para constatar la ocurrencia del fenómeno en diversas partes del mundo.

4.3 Reconocimiento de un Suelo Supresivo

En algunos suelos uno o varios patógenos pueden estar ausentes y entonces no se manifiesta la enfermedad, sin ser supresivos. También puede suceder que a pesar de estar presente el patógeno no se presente la enfermedad porque no se cumplen los requerimientos ambientales favorables a su desarrollo. Finalmente puede ocurrir que el hospedante sea resistente a la enfermedad.

El caso contrario es la conductividad, por la cual un suelo permite el establecimiento y la propagación del patógeno y en consecuencia, la aparición de la enfermedad en la planta hospedante.

Para los patógenos causantes del volcamiento de plántulas en semilleros, el modo de evaluar el grado de supresividad consiste en la inoculación puntual del patógeno en un área determinada de suelo, la cual se siembra con un hospedante susceptible .Un alto grado de supresividad no permitirá la propagación del patógeno en el suelo, y entonces pocas o ninguna planta enfermará, mientras que un suelo conductivo permitirá un progreso radial de la enfermedad a partir de la fuente de inóculo. Se puede diseñar un experimento para permitir la cuantificación del grado de supresividad o conductividad, comparándola con un testigo no inoculado(22,2).

4.4 Factores que afectan la Supresividad de un Suelo

4.4.1 Secuencia de los cultivos

La capacidad supresiva de un suelo puede manifestarse a través del cultivo sucesivo de un hospedante susceptible. Según Klapp y Chester citados por Shipton(32), la caída eventual de la expresión de la enfermedad es una consecuencia natural del monocultivo y es una situación llena de posibilidades para el control biológico.

Chet y Baker (11) lograron inducir supresividad en un suelo únicamente con su acidifiación (de un pH 8.1 pasó a 6.5 y 5.7) y resiembras sucesivas de rábano, alfalfa y remolacha a intervalos semanales. Liu y Baker(30), aseguran que el antagonismo que se desarrolla en este caso se basa en la actividad de Trichoderma harzianum presente en el suelo. Sin embargo, Henis et al (22), suponen que el aumento de la capacidad supresiva del suelo al patógeno se debe además del desarrollo del T. harzianum, al crecimiento de una flora adicional contra R. solani.

Sin embargo, si el suelo es conductivo se produce un modelo de respuesta ante el monocultivo completamente diferente, y pueden darse casos en los cuales la enfermedad alcanze un máximo de intensidad sin declinar significativamente a lo largo de los años(36).

4.4.2 Utilización de Enmiendas

Las enmiendas de suelo, como son los residuos vegetales, compuestos derivados de azúcares, aminoácidos y quitina, han demostrado afectar notablemente la flora del suelo. Sequeira(35), obtuvo la eliminación de F. oxysporum f. sp. cubense en suelos suplementados con altas concentraciones de glucosa, sucrosa o tejidos picados de hojas y tallos de caña de azúcar. Zakaria y Lockwood(43), utilizaron harina de semillas de oleaginosas(lino, algodón y soya) para reducir poblaciones de F. oxysporum y F. solani en el suelo. La harina de soya presentó la ventaja de

BIBLIOTECA AUTÓNOMA DE COLOMBIA

no causar fitotoxicidad al cultivo de arveja que se sembró posteriormente.

La reducción de la población patogénica de Fusarium se correlacionó con la disminución en la incidencia de la pudrición de raíz en el cultivo. Sin embargo, la efectividad del tratamiento requiere una humedad del suelo estable y determinada y tal vez el uso de una cubierta hermética.

Mitchel y Alexander en 1962, citados por Agrios(1), aplicaron al suelo enmiendas de quitina, caparazones de langosta y en algunos casos laminarina, y obtuvieron cierto grado de control de F. oxysporum f. sp. conglutinans, F. oxysporum f. sp. cubense, F. solani f. sp. phaseoli y R. solani, aunque Pythium ultimum no fué afectado .

Las enmiendas con quitina también inhiben la actividad saprofítica de R. solani además de otras especies fungosas según los resultados obtenidos por Sneh y Henis(39). Es posible que en estos casos juegue un papel importante la actividad de los actinomicetes, los cuales poseen ciertas especies capaces de descomponer quitina,proteínas y celulosa, además de la producción de antibióticos.

4.4.3 Condiciones del Suelo

Las con diciones del suelo como la textura, humedad y reacción

del suelo influyen en la eficacia de la supresividad. Linderman(29), observó que los suelos arenosos son en general altamente conductivos a las enfermedades vasculares ocasionadas por F. oxysporum, mientras que algunos suelos arcillosos son supresivos, especialmente aquellos ricos en montmorillonita. La arcilla aparentemente no afecta directamente al patógeno, pero favorece el desarrollo de microorganismos antagonistas que interfieren con la actividad del patógeno.

En suelos supresivos a Fusarium se ha descubierto que los niveles de pH cercanos a la neutralidad favorecen el control biológico, debido probablemente a que los antagonistas son bacterias que se ven estimuladas por esta condición(33). En contraste, la supresividad a los patógenos que ocasionan pudrición de semillas se ve favorecida por los niveles de pH bajos. Chet y Baker (11) encontraron que la disminución del pH del suelo de 8.1 a 6.5 y 5.7 redujo la incidencia de la enfermedad causada por R. solani en alfalfa, rábano y remolacha azucarera. A su vez, el antagonista T.harzianum aumentó la densidad de propágulos bajo tales condiciones.

En forma similar, las prácticas culturales como la fertilización, encalado y riego, influyen en la actividad biológica de los suelos, y por lo tanto en la incidencia de las enfermedades y en la acción de los antagonistas sobre los patógenos.

Sin embargo, la escasa información existente alrededor del tema a nivel de campo no permite diferenciar con claridad los fenómenos epidemiológicos de las enfermedades, de los mecanismos biológicos de supresividad del suelo, igualmente afectados por el clima y las condiciones del medio.

4.5 Base Biológica de la Supresividad

Hay un acuerdo entre los investigadores de la supresividad del suelo en cuanto afirman que el patógeno o patógenos no desarrollan su potencial de actividad debido a agentes puramente biológicos aunque el fenómeno esté influído por otras características físicas o químicas del suelo y del medio ambiente. Esta afirmación se basa en la variabilidad que presenta el caracter supresivo del suelo según las prácticas culturales y más recientemente por los métodos de esterilización del suelo que han demostrado eliminar esta capacidad supresiva.

Los organismos involucrados en el control biológico son de diversa naturaleza. En orden de importancia se mencionan las bacterias, los actinomicetos y los hongos. También se informa en la literatura de amibas y colémbolos que consumen microorganismos patógenos.(2).

4.6 Agentes Biológicos para Control de Patógenos

El fenómeno biológico de los suelos supresivos ha motivado la investigación tendiente a identificar el mecanismo de control

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

para tratar de inducirlo en suelos conductivos. A continuación se presentan los resultados obtenidos contra los patógenos Pythium sp., R. solani y F. oxysporum.

Las investigaciones realizadas en suelos supresivos a los patógenos que provocan pudriciones y volcamiento de plántulas, demuestran la existencia de diversos antagonistas contra Pythium sp. y R. solani. Uno de los organismos más efectivos ha demostrado ser T. harzianum, el cual logra reducir la incidencia de las enfermedades causadas por R. solani en hospedantes como clavel (15), rábano, fríjol(11), papa(16), alfalfa, remolacha (10), y las enfermedades causadas por Pythium sp. en arveja(25) y otros hospedantes. Respecto a F. oxysporum, Elias y Arcos(17) lograron prolongar el período de incubación de la enfermedad en pepino cohombro mediante el uso de Trichoderma.

El hongo Gliocladium roseum ocasiona antibiosis contra R. solani y controla el volcamiento de plántulas en cítricos. Inicialmente fué identificado como Trichoderma lignorum por Weindling en 1936 pero Webster et al, revisaron y corrigieron esta clasificación, según Hadar et al (21).

Odvody et al (31), utilizaron un hongo basidiomiceto clasificado dentro del género Laetisaria como agente de control de la enfermedad ocasionada por R. solani en remolacha azucarera. Este antagonista presenta facilidades para su propagación y

aplicación en campo además de buena efectividad. Anteriormente se utilizó para el control de R. solani en pepino, según Lewis y Papavizas, y Pythium ultimum Trow en remolacha, según Hoch y Abawia, citados por Odvody (31).

Las bacterias también actuan como antagonistas; la especie Bacillus subtilis posee ciertas razas con actividad antibiótica de amplio espectro y que contrôlan efectivamente a R. solani, según Olsen y Baker, citados por Baker y Cook(2). Esta bacteria presenta la ventaja de no inhibir con su actividad a otros antagonistas, como los actinomicetes saprofíticos(2).

Por otro lado,las investigaciones de Scher y Baker(30), en suelos supresivos a F. oxysporum f. sp. dianthi llevaron a la conclusión de que las bacterias pertenecientes al género Pseudomonas sp. eran las principales inductoras de la supresividad, principalmente la especie P. putida . Smith(38), había encontrado que la bacteria Arthrobacter, se asociaba con la supresividad a F. oxysporum f. sp. vasinfectum y F. oxysporum f. sp. tracheophilum. Smith (38), menciona además a la bacteria Bacillus subtilis como posible inductora de supresividad.

4.7 Mecanismos de Control Biológico

Los mecanismos de control biológico de patógenos pueden variar según los diversos antagonistas involucrados. La supresividad del suelo comprende los fenómenos biológicos como la fungista-

sis, la habilidad saprofítica competitiva, el hiperparasitismo y otras posibles interacciones con el patógeno.

4.7.1 Fungistasis

Dobbs y Hinson (14) crearon el término "fungistasis" para describir la inhibición de la germinación de los propágulos o del crecimiento y diseminación de los hongos habitantes del suelo, comparado con el comportamiento que exhiben bajo condiciones similares *in vitro*.

La fungistasis parece ser el fenómeno implicado en la supresividad de algunos suelos a la marchitez ocasionada por *F. oxysporum* (37). Las razones que se arguyen se refieren a la supresión de la enfermedad independientemente de la población del patógeno y la reducción marcada de la germinación de las esporas.

El mecanismo de la fungistasis se debe en gran medida a la producción de antibióticos por parte de ciertos microorganismos del suelo. Los hongos pertenecientes a los géneros *Trichoderma*, *Gliocladium* y *Penicillium* se destacan por la capacidad de sintetizar antibióticos de amplio espectro(2).

Igualmente las bacterias parecen ser las responsables de la supresividad en suelos contra patógenos pertenecientes al género *Fusarium*. Los antibióticos producidos por *Bacillus*

subtilis y otras bacterias inducen lisis de las clamidosporas de algunos patógenos (38).

4.7.2 Hiperparasitismo

El hiperparasitismo de hongos patógenos puede ocurrir de varias formas. Una de ellas consiste en el enrollamiento que hace el micoparásito sobre el micelio del otro hongo, con o sin penetración, como es el caso de T. harzianum sobre R. solani (8,15, 17). Durante esta interacción, el micoparásito libera extracelularmente enzimas como la B (1-3) gluconasa y la quitinasa, que ayudan a digerir las paredes del hongo hospedante.

4.7.3 Competencia

El espacio que logra ocupar un microorganismo en un sustrato ya sea por medio de su crecimiento rápido o porque el azar lo favorece, será retenido en posesión aún cuando sea enfrentado con otros saprófitos vigorosos como F. roseum 'culmorum' o T. viride.

La ocupación de un sustrato como medio de antagonismo en el control biológico puede ser de utilidad contra patógenos de gran habilidad competitiva saprofítica. Por ejemplo, cuando los residuos de plantas se descomponen sobre la superficie del suelo, antes de incorporarlos, serán ocupados primero por saprófitos que porta el aire. Por lo tanto, estos residuos serán menos favorables a la invasión por Pythium, Rhizoctonia y las espe-

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

cies altamente competitivas de Fusarium, en comparación con la incorporación inmediata después de la cosecha de los tejidos frescos de las plantas; ésto, por su puesto, es lo que ocurre bajo condiciones naturales o silvestres (2).

Un caso similar lo registra Watson, citado por Linderman et al (29), quien utilizó un medio orgánico y lo esterilizó en forma incompleta, para luego exponerlo a la contaminación por microorganismos del aire. Posteriormente lo utilizó como inóculo para mezclarlo con un medio de propagación tratado con vapor, y encontró que los esquejes de crisantemo enraizados en esta mezcla obtenían una buena protección contra Pythium cuando se trasplantaban a un suelo infectado.

Lin y Cook (28) encontraron que varias especies fungosas de rápido crecimiento, como Mucor plumbeus, Mucor hiemalis, Trichoderma viride y Penicillium sp., actuando solos o en combinación controlaban la pudrición radical de la lenteja causada por Fusarium roseum 'Avenaceum' cuando se añadían a un suelo tratado con calor húmedo (60 C durante 30 minutos). En estos casos el mecanismo de control parece ser la inhibición competitiva que sufre el patógeno frente a sus antagonistas.

III. MATERIALES Y METODOS

1. SUELO

En todos los experimentos se utilizó suelo franco-limoso, procedente del Parque Simón Bolívar de Bogotá. El análisis de suelos reveló un contenido de materia orgánica del 10.0 %, P asimilable del 10.9 %, K de 0.32 me./100 gr. de suelo y Ca de 2,5 me./100 gr. de suelo. El pH inicial fué de 5.0.

Para los diferentes ensayos el suelo se esterilizó en el autoclave a 121 C durante una hora por tres días consecutivos.

2. MICROORGANISMOS UTILIZADOS

Los aislamientos de Fusarium oxysporum Schl f. sp. cucumerinum y de Pythium sp. se obtuvieron del Dr. Ralph Baker de Colorado State University, Fort Collins, Colorado, y el aislamiento de Rhizoctonia solani Kühn fué enviado por el programa de fríjol del CIAT.

Los aislamientos T15 y T17 de Trichoderma harzianum se obtuvieron del trabajo de Elías y Arcos, y habían demostrado gran efectividad en el control biológico de ciertos patógenos.

3. ENSAYOS DE CONTROL BIOLOGICO

3.1 Hospedantes

Los primeros ensayos buscaron determinar las especies vegetales más susceptibles y convenientes para la realización de los trabajos posteriores de control biológico. El suelo inoculado separadamente con los patógenos Pythium sp. y R. solani se sembró con diferentes hortalizas, tales como: zanahoria, remolacha, coliflor, cebolla, rábano, que han sido registradas en la literatura como susceptibles al volcamiento de plántulas en semilleros.

Para los ensayos donde se inoculó F. oxysporum, se utilizó como hospedante la variedad Poinsett 76 de pepino cohombro.

3.2 Inoculación de los Patógenos

Para llevar a cabo los ensayos, el inóculo consistió en un medio axénico donde se desarrollaron abundantemente los patógenos Rhizoctonia solani y Pythium sp. Se utilizó el medio 'papa rebanada y suelo' (CPS)(11), para lo cual se empleó suelo y papa cortada en proporción 4:1 peso seco/peso fresco, respectivamente, y una humedad del 15 % con respecto al peso total. Qui-

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

nientos gramos de este medio se colocaron en erlenmeyers de 2000 ml y se esterilizaron en autoclave a 121 C durante una hora por 3 días consecutivos. Posteriormente el medio se inoculó con el hongo que había crecido inicialmente en cajas de PDA(Papa-dextrosa-agar), y se incubó durante 7 días, tiempo suficiente para una total colonización del medio. Finalmente se mezcló con suelo esterilizado, en proporciones de 10, 5, 1 y 0.5 % para obtener varios niveles de inóculo, con el fin de determinar la dosis de CPS necesaria para obtener un 50 % de incidencia de la enfermedad.

Para la propagación de F. oxysporum se utilizaron granos de avena mezclados con agua, de acuerdo con la metodología establecida por Borda (6); este medio se esterilizó en el autoclave a 121 C por una hora durante 3 días consecutivos, y luego se incubó a 26 C durante 15 días con el hongo. Finalmente se aplicó al suelo esterilizado a razón del 3%.

3.3 Inoculación de los Antagonistas

Los diferentes aislamientos de Trichoderma se cultivaron en cajas de petri con PDA, medio en el cual esporularon abundantemente. Se aplicaron 10 ml de agua destilada estéril por caja y se agitó con el objeto de liberar las esporas y obtener una suspensión acuosa, para luego utilizarla como inóculo en el suelo respectivo.

Para determinar la concentración de esporas en la suspensión, se utilizó el método de conteo con un hemacitómetro. Los valores resultantes para las diluciones decimales de una suspensión original, se compararon con los datos de densidad óptica respectivos, encontrándose un alto grado de correlación ($r = 0.94$) para 3 repeticiones con el mismo procedimiento. Entonces se realizó el análisis de regresión entre las dos variables. Las ecuaciones resultantes fueron:

$$Y_{T15} = 0.58 + 49.8\ x \qquad r = 0.99 \ (a)$$

$$Y_{T17} = 2.16 + 102.43\ x \qquad r = 0.99$$

Donde

Y_{T15} = Concentración de esporas de Trichoderma T15 en 10^6 esporas / ml de solución, y

Y_{T17} = Concentración de esporas de Trichoderma T17 en 10^6 esporas / ml de solución,

x = Valor de la densidad óptica de la solución.

(a) Significativo al 5%.

Los ensayos posteriores midieron la densidad de esporas con la ecuación de regresión y el valor de la densidad óptica de la suspensión dada.

Esta suspensión fué la fuente de inóculo para Trichoderma, la cual se aplicó 15 días antes de la inoculación del patógeno.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

3.4 La Siembra

Los experimentos se realizaron en materós plásticos de 10 cms de diámetro mayor y 8 cms de altura, a cada uno de los cuales se les agregó 200 g de suelo. La densidad de siembra fué de 5-8 semillas de coliflor y de 4-5 semillas de pepino por matero, a una profundidad de 0.5 a 1.0 cms.

Los materos se colocaron bajo iluminación continua proveniente de lámparas fluorescentes situadas a un metro de altura de los materos y que proporcionaron 5000 lux aprox., y una temperatura promedio de 25 C. La humedad relativa se mantuvo alrededor del 70%.

4. MEDICION DE LA ENFERMEDAD

La enfermedad causada por Pythium sp, R. solani y F. oxysporum, se evaluó de acuerdo a la incidencia y la sintomatología presente. Se hicieron registros del porcentaje de germinación y número de plantas enfermas a los 8 y 15 días después de la siembra para el coliflor y a los 15, 30 y 60 días para el pepino.

5. MEDICION DEL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

El efecto de Trichoderma y de los patógenos en el crecimiento de las plantas se evaluó mediante mediciones del área foliar

por un método no destructivo. Consistió en el uso de una planilla transparente señalada con puntos uniformemente espaciados en cuadro, a 0.5 cms. El conteo de los puntos circunscritos a la lámina foliar da un estimativo del área, al dividir el resultado por una constante(en este caso 4, y el dato queda en cms^2)según el espaciamiento fijado.

6. EFECTO DE LA REACCION DEL SUELO

Al suelo con pH 5.0 se le aplicó carbonato de Calcio ($CaCO_3$) en proporciones de 2, 4, 6, 10 y 16 g por kg de suelo para subir la reacción y obtener diferentes valores; luego se hicieron análisis de suelo períodicos hasta obtener una estabilidad en la reacción.

En los ensayos para R. solani y F. oxysporum, se seleccionaron los niveles de pH 5.0, 6.2 y 7.3, y para las pruebas con Pythium sp. se utilizaron los niveles 5.0, 5.7 y 6.8. Bajo estas condiciones de pH se realizaron los ensayos finales de aplicación de Trichoderma para evaluar su efecto en la incidencia de las enfermedades respectivas.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

1. ELECCION DE LOS HOSPEDANTES

La patogenicidad de los aislamientos de Pythium sp y R. solani se comprobó en las diferentes especies de hortalizas mencionadas en la metodología; la susceptibilidad a la pudrición de la semilla fué mayor en cebolla, acelga y remolacha, en las cuales bajos niveles de inóculo causaron 100% de incidencia de la enfermedad. El rábano, la zanahoria y el coliflor presentaron mayor resistencia a la pudrición de la semilla. En estas plantas se observó el daño causado por los patógenos tanto en preemergencia por la reducción en el porcentaje de germinación, como en post-emergencia con la pudrición del pie o cuello de las plántulas y el consiguiente volcamiento.

Para llevar a cabo los ensayos de control de los patógenos resultó conveniente metodológicamente elegir un solo hospedante. Una planta que presentó síntomas claros de la enfermedad causada por Pythium sp. y R. solani, además de un porcentaje de germinación adecuado en los testigos fué el coliflor var. Gi-

gante de Otoño, por lo cual se seleccionó entre las demás.

La sintomatología de la planta cuando es atacada en post-emergencia por R. solani difiere de la causada por Pythium sp. En el primer caso la plántula sufre una pudrición en la base del tallo y por consiguiente se volca, pero puede sobrevivir a la enfermedad, mientras que en el segundo, la pudrición avanza desde el cuello hacia las hojas cotiledonales volcando y secando la plántula.

A pH 7.3 las plantas de coliflor atacadas por R. solani también presentaron quemazón o necrosis café en las hojas cotiledonales, situación que no se observó con Pythium sp.

2. DETERMINACION DE LA DOSIS MEDIA

Una vez elegido el hospedante para los respectivos patógenos, se procedió a determinar la dosis de CPS necesaria para lograr un 50% de pudrición de semillas. R. solani requirió de solo un 1% de CPS en suelo esterilizado, mientras que Pythium sp. necesitó de un 10% de inóculo, cuando se hicieron los tratamientos separados para cada patógeno.

Los resultados de este primer ensayo permitieron encontrar una correlación positiva y altamente significativa entre la densidad de inóculo y la incidencia de la enfermedad. Sin em-

bargo, en ensayos posteriores utilizando las dosis de inóculo establecidas, se obtuvieron variaciones significativas en la incidencia de la enfermedad, lo cual significa que se requiere un método alternativo o complementario para medir con precisión el inóculo.

Este fenómeno ocurrió no solo con R. solani y Pythium sp. inoculados en CPS sino también con F. oxysporum inoculado en Avena agua. En los análisis estadísticos aparece como efecto de "ensayo" o en la interacción ensayo x patógeno. Para subsanar esta deficiencia, cada ensayo se analizó separadamente, y se utilizaron los tratamientos donde el suelo se inoculó con los patógenos únicamente, como base de comparación para medir el efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum en la incidencia de la enfermedad.

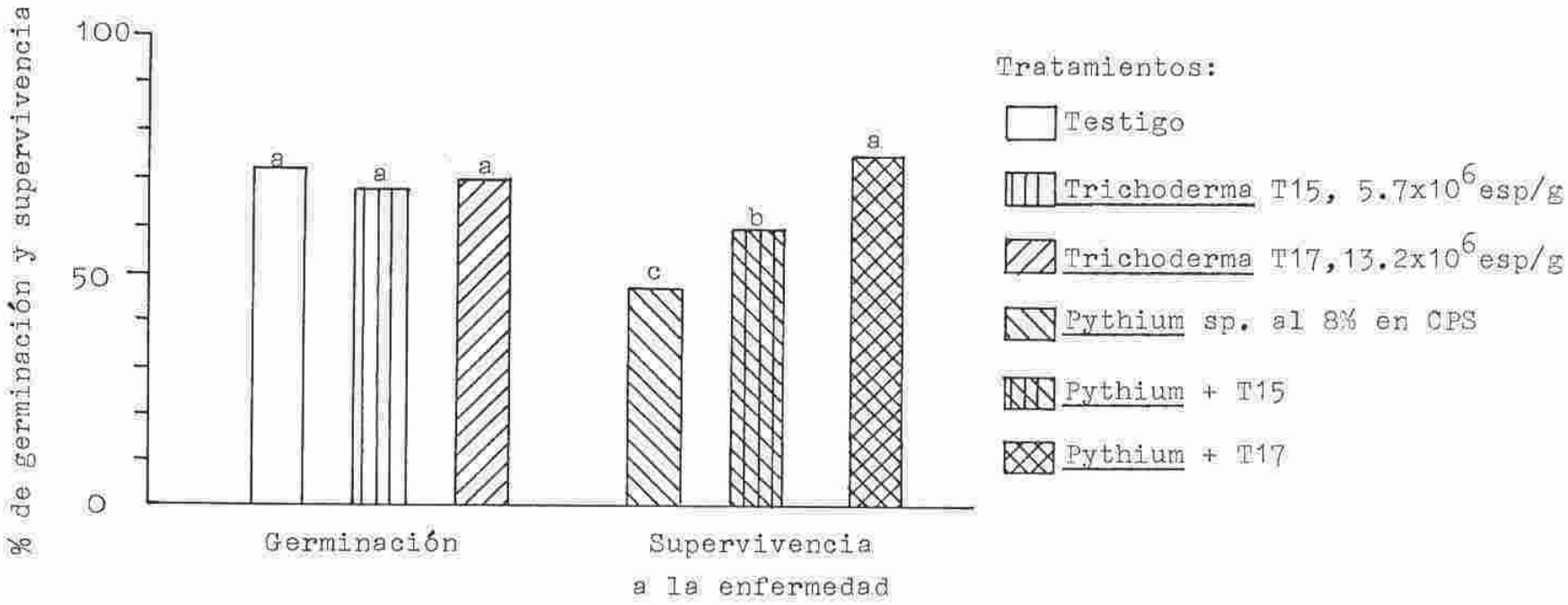
BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

3. EFECTO DE LA APLICACION DE Trichoderma harzianum

3.1 En la Incidencia de las Enfermedades

La aplicación de los aislamientos T15 y T17 de Trichoderma harzianum redujo significativamente la incidencia de la pudrición de semillas causada por Pythium sp. en coliflor. Como muestra la Figura 1, el aislamiento T17 a la dosis de 13,2 x 10^6 esporas/g de suelo anuló completamente el efecto patogénico de Pythium sp. al 8% en CPS, mientras que el tratamiento testigo tuvo un 36% de incidencia. El aislamiento T15, por

Figura 1. Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum en el control de Pythium sp. en coliflor



Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

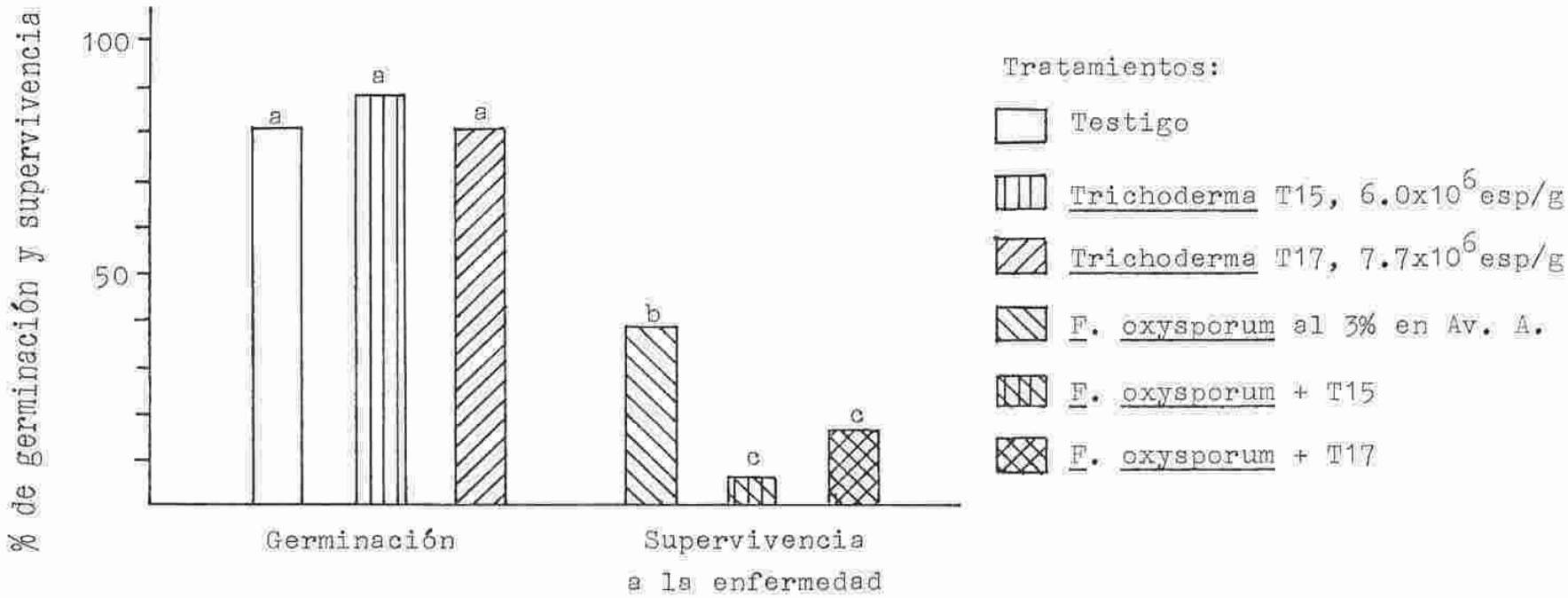
otra parte, a la dosis de 5.7×10^6 esp/g de suelo, redujo la enfermedad a un nivel del 14 %.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

En cambio, los intentos de control de R. solani mediante la adición de T. harzianum no condujeron a resultados positivos estadísticamente (Anexo 2). Sin embargo, se observó que el aislamiento T17 influyó favorablemente en el porcentaje de germinación, el cual se aumentó aún bajo el efecto de R. solani pero sin interactuar significativamente con el patógeno mismo (Anexo 11). Este fenómeno se presentará más adelante como efecto del antagonista en el desarrollo de la planta de coliflor.

Igualmente resultaron infructuosas las aplicaciones de Trichoderma harzianum para controlar F. oxysporum f. sp. cucumerinum en pepino cohombro(Figura 2). Aunque el aislamiento T15 no hizo variar significativamente el porcentaje de germinación cuando se aplicó sólo al suelo a la dosis de 6.0×10^6 esp/g de suelo, cuando se le agregó F. oxysporum se redujo significativamente la germinación de las semillas en un 85% con respecto a los testigos no tratados, lo cual es un síntoma atípico del ataque del patógeno. Con el aislamiento T17 a la dosis de 7.7×10^6 esp/g de suelo, la reducción en germinación fué del 60%. La aplicación de Trichoderma no afectó significativamente la incidencia de la marchitez de plántulas.

Figura 2. Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum en la incidencia de Fusarium oxysporum en pepino cohombro



Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

3.2 En el Desarrollo de la Planta

3.2.1. Porcentaje de Germinación

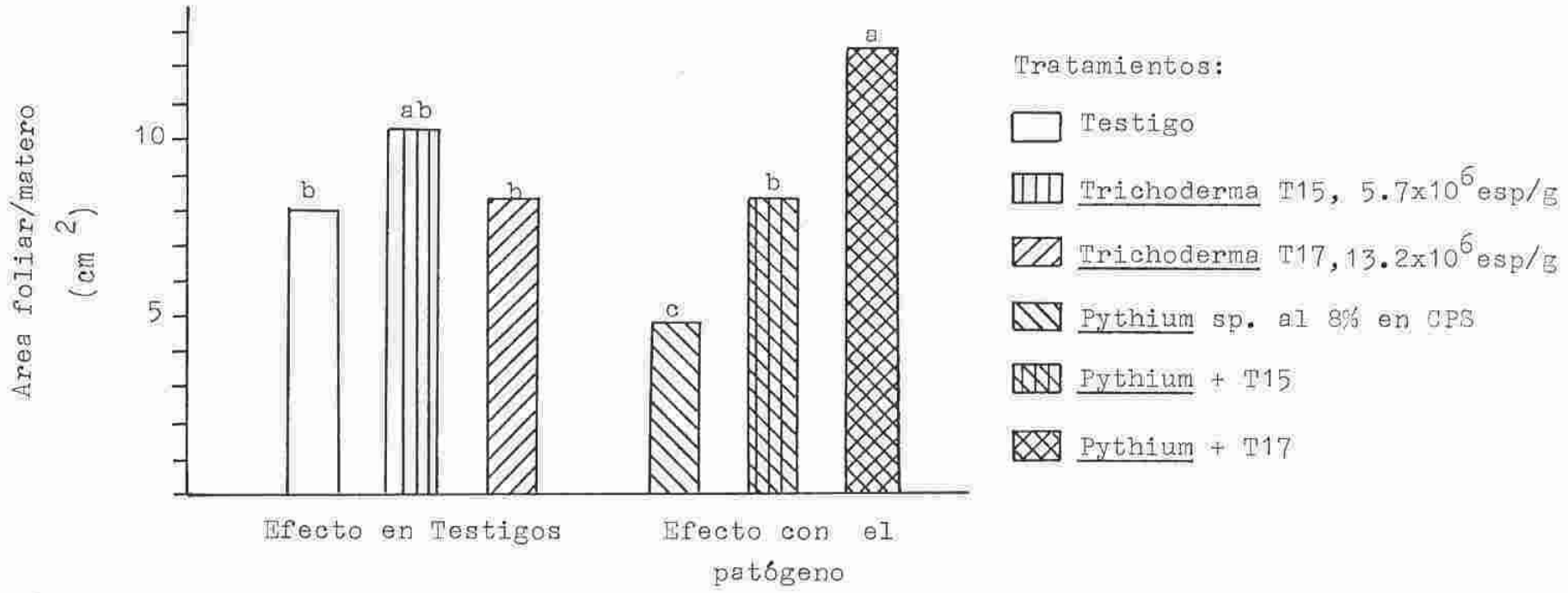
Los aislamientos de T. harzianum utilizados en los ensayos demostraron tener un efecto positivo sobre la germinación de la semilla del coliflor cuando se aplicaron al suelo a diferentes dosis. Los resultados permiten correlacionar las concentraciones de los aislamientos T15 y T17 en el suelo con el porcentaje de germinación. En el primer caso con el aislamiento T15, se requirió de una dosis de 5.7×10^6 esp/g de suelo para aumentar en un 20% el porcentaje de germinación del testigo, y en el segundo caso, con T17, de 9.6×10^6 esp/g de suelo para obtener el mismo efecto. Para el caso del pepino las fluctuaciones en los resultados no permitieron trazar tendencias, pero el efecto de T. harzianum demostró ser favorable a la germinación de la semilla.

3.2.2 Crecimiento de la Planta

La aplicación de los aislamientos T15 y T17 de Trichoderma harzianum a un suelo inoculado con Pythium sp. no sólo redujo la incidencia de la enfermedad sino además contribuyó a un mayor desarrollo foliar de las plantas sobrevivientes, las cuales superaron en vigor a las plantas del tratamiento testigo, no inoculadas con ningún patógeno ni antagonista(Figura 3).

Cuando se realizó un ensayo similar utilizando T harzianum y R. solani, se demostró de nuevo el efecto benéfico del antago-

Figura 3. Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum y Pythium sp. en el desarrollo foliar de las plantas de coliflor



Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

nista en el crecimiento de las plantas de coliflor cuando actuaba aisladamente (Figura 4), aunque bajo la influencia del patógeno inoculado en CPS al 1%, perdía importancia estadísticamente (Anexo 14). La dosis empleada para los aislamientos T15 y T17 fué de 7.8 y 11.0 x 10^6 esporas/g de suelo respectivamente, y el estímulo en crecimiento fué del orden del 74% en promedio, con respecto al testigo no inoculado.

Aunque las observaciones sobre el crecimiento de las plantas de pepino cohombro confirmaron que esta planta también se favoreció por la aplicación de Trichoderma, los resultados negativos en el control de la enfermedad causada por F. oxysporum no justificaron la obtención de datos al respecto.

Por otra parte, las mediciones del área foliar de las plantas de coliflor condujeron a la conclusión de que los patógenos Pythium sp., R. solani y F. oxysporum también causan detrimento en el crecimiento aunque la planta sobreviva a la pudrición ó al marchitamiento, según el caso.

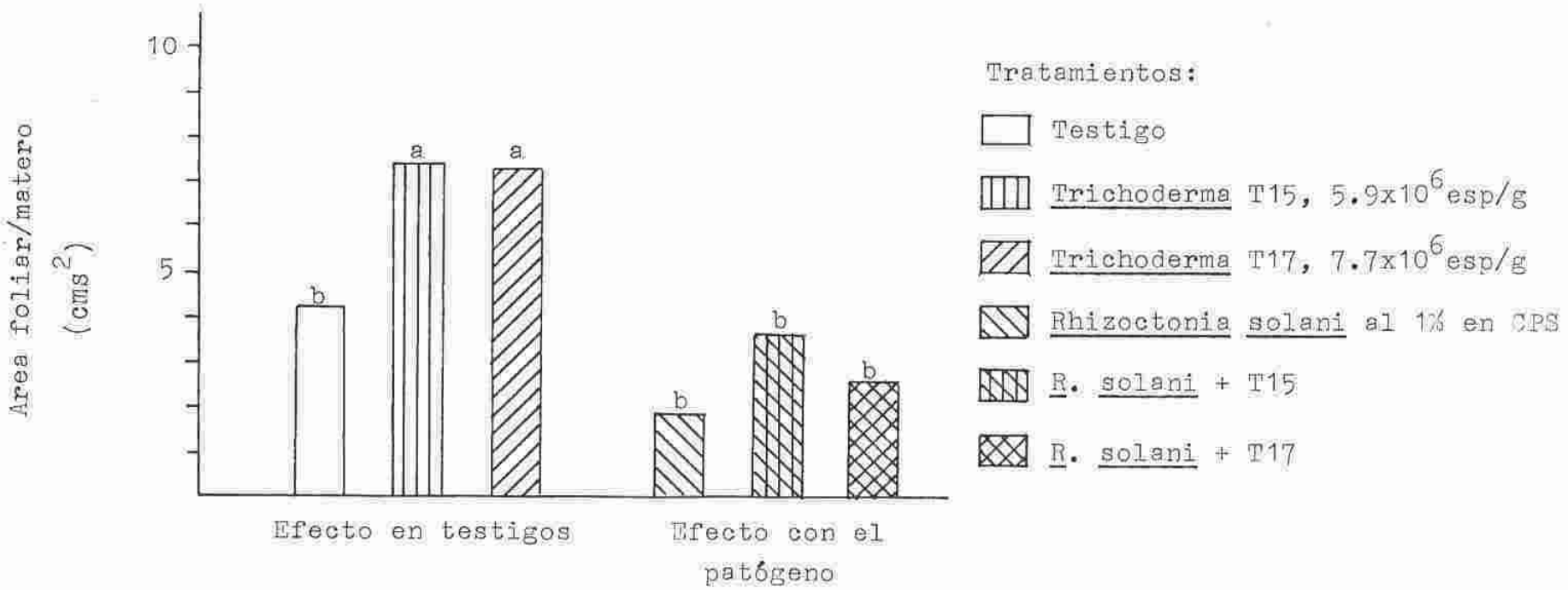
BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

4. EFECTO DE LA REACCION DEL SUELO

4.1 En la Incidencia de la Enfermedad

La reacción del suelo afectó la incidencia de la enfermedad ocasionada por Pythium sp. en plantas de coliflor, la cual se hizo mayor a un nivel de pH de 5.7 (con un 34% de pudrición)

Figura 4. Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum y Rhizoctonia solani en el desarrollo foliar de las plantas de coliflor



Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

y de 6.8 (21% de incidencia) a los 15 días después de la siembra. En cambio, a un pH de 5.0, el patógeno no tuvo un efecto significativo en el desarrollo de su hospedante, tal como muestra la Figura 5.

A pH de 6.2 aumentó la incidencia de R. solani en coliflor en forma significativa (la cual alcanzó un nivel del 50% a los 15 días después de la siembra), pero a un pH alto como 7.3, y a uno bajo de 5.0, no se desarrolló la enfermedad en forma significativa estadísticamente.

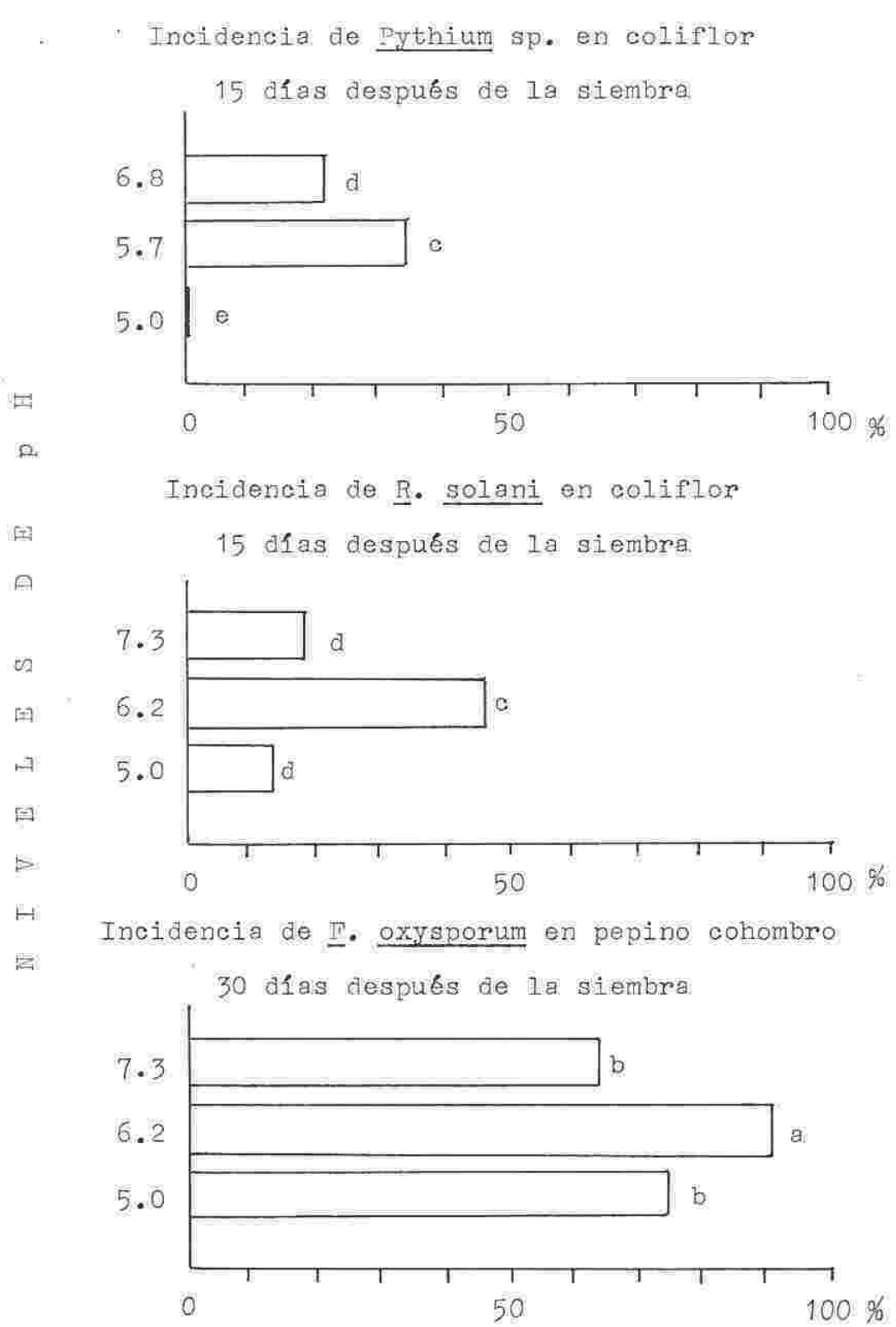
Para el caso de pepino cohombro inoculado con F. oxysporum, la situación fué similar. La incidencia de la marchitez fué mayor a pH 6.2, donde alcanzó un nivel del 90%, mientras que a niveles de pH altos (pH = 7.3) o bajos (pH =5.0) la incidencia disminuyó a un 63 y 64% respectivamente a los 30 días después de la siembra.

En general se observó que un nivel de pH de 5.7 a 6.2 aumentaba la incidencia de las enfermedades estudiadas. Este resultado refleja el rango más adecuado al desarrollo del patógeno de acuerdo con las características del suelo y a la susceptibilidad de las plantas hospedantes a las enfermedades.

4.2 En el Efecto de Trichoderma harzianum

Los tratamientos con Trichoderma harzianum exhibieron respues-

Figura 5. Efecto del pH del suelo en la incidencia de las enfermedades



tas diferentes ante las variaciones de pH, como se puede observar en la Figura 6. El aislamiento T17 a la dosis de 13.2 x 10^6 esp/g de suelo estimuló la germinación de las semillas y su efecto no varió significativamente a los 3 niveles de pH empleados(5.0, 5.7, y 6.8); el aumento en germinación fue de un 22 % en promedio. En cambio el aislamiento T15 a la dosis de 5.7 x 10^6 esp/g de suelo solo actuó positivamente al nivel de pH 5.0 aumentando la germinación en un 23%.

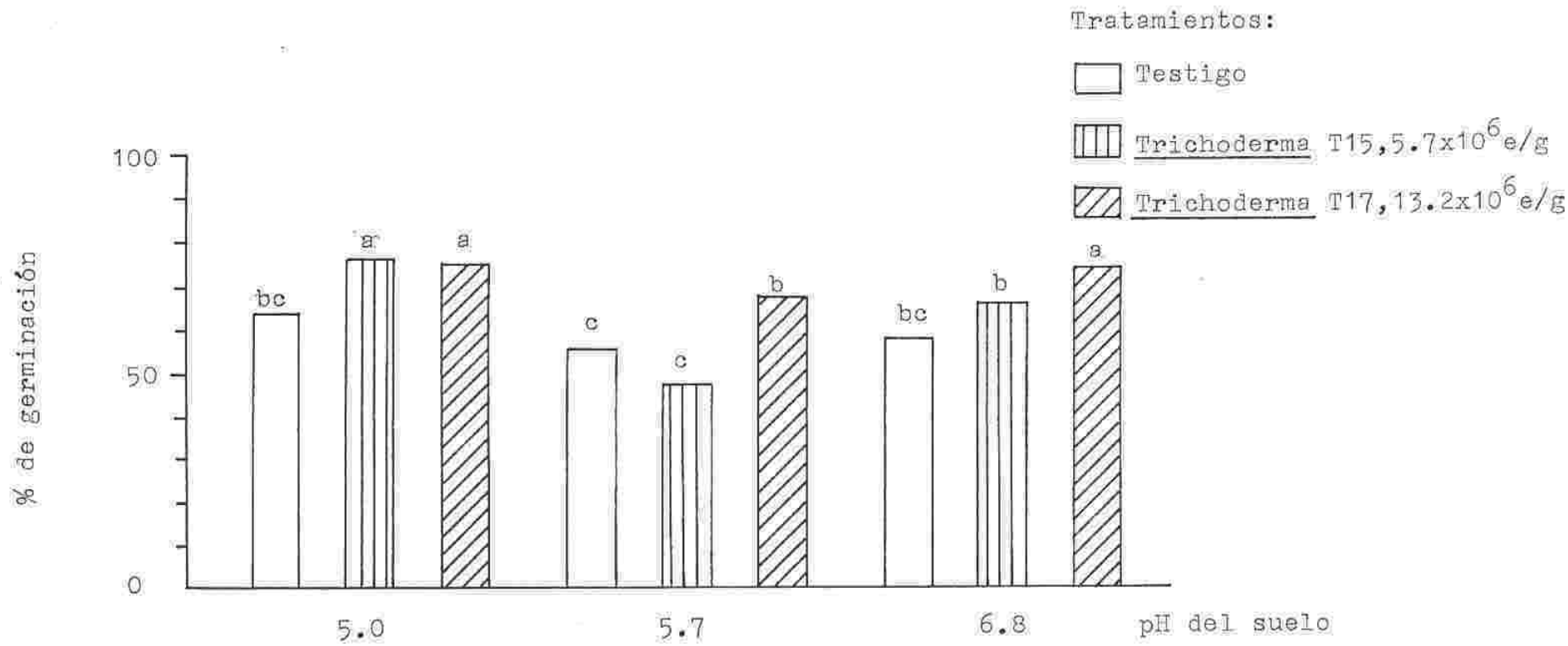
Por otra parte, el efecto favorable de la aplicación de T. harzianum sobre el desarrollo foliar de la planta de coliflor, una vez germinada, no varió significativamente para los 3 niveles de pH mencionados, ni para los 2 aislamientos de Trichoderma utilizados (Anexo 13).

En el ensayo donde se utilizaron plantas de pepino cohombro, la acción positiva de T. harzianum en la germinación de la semilla no varió de acuerdo con los valores de pH (5.0, 6.2 y 7.3). El efecto deprimente en germinación cuando se hallaban presentes tanto el patógeno como T. harzianum, no se afectó tampoco en forma significativa por la variación de pH (Anexo 10).

4.3 En el Control de Patógenos

Las variaciones de pH no afectaron la interacción entre Trichoderma harzianum y los patógenos utilizados. Esta afirmación

Figura 6. Efecto del pH del suelo en la acción de Trichoderma harzianum sobre la germinación del coliflor



Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA

está corroborada por los análisis estadísticos donde la interacción del pH x T. harzianum x patógeno no fue significativa en ninguno de los ensayos (Anexos 8-14).

V. CONCLUSIONES

1. Los aislamientos T17 y T15 de T. harzianum redujeron la incidencia de la pudrición de semillas causada por Pythium sp. en coliflor variedad "Gigante de Otoño" bajo las condiciones de laboratorio y utilizando suelo previamente esterilizado.

   La enfermedad disminuyó en un 100 % con la aplicación del aislamiento T17 a la dosis de 13.2×10^6 esp/g de suelo y en un 61 % con el aislamiento T15 a la dosis de 5.7×10^6 esp/g de suelo, con respecto a los testigos inoculados con Pythium sp. al 8% en CPS.

2. Otras enfermedades causadas por R. solani en coliflor y F. oxysporum f. sp. cucumerinum en pepino cohombro var. Poinsett 76 no fueron afectadas significativamente por la adición de T. harzianum.

3. La aplicación del antagonista estimuló significativamente el crecimiento del coliflor y el pepino cohombro, expresado como un mayor porcentaje de germinación y un mayor desarrollo fo-

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

liar con respecto a testigos no inoculados. Cuando el antagonista interactuó con Pythium sp. incrementó el área foliar en mayor proporción.

4. Las plantas sobrevivientes a los patógenos inoculados sufrieron un menor desarrollo foliar que los testigos, a pesar del menor número de plantas que disminuyó la competencia entre las mismas. Cuando estuvo presente R. solani algunas plantas quedaron con lesiones de ceñimiento en el tallo, mientras que con Pythium no se presentó ninguna sintomatología adicional en las plantas sobrevivientes al volcamiento, además de su menor desarrollo.

5. La variación del pH del suelo entre 5.0 y 7.3 no afectó la interacción entre los patógenos y los antagonistas, en forma significativa estadísticamente. Tampoco afectó la acción benéfica de los dos aislamientos de Trichoderma harzianum sobre el desarrollo foliar de las plantas de coliflor. El efecto favorable en la germinación de las semillas de coliflor por la aplicación del aislamiento T17 no se afectó por la variación del pH, pero el aislamiento T15 estimuló una mayor germinación con respecto a controles no inoculados únicamente en el pH 5.0.

6. La metodología en la propagación y aplicación de los patógenos debe ser revisada, dada la variabilidad en la densidad de inóculo o en el potencial de la enfermedad obtenida a través de las diversas repeticiones.

RESUMEN

En los laboratorios de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Bogotá se llevaron a cabo varios ensayos para determinar el efecto de la aplicación del hongo antagonista Trichoderma harzianum en la incidencia de las enfermedades causadas por Pythium sp. y Rhizoctonia solani en plántulas de coliflor, y la marchitez causada por Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum en plantas de pepino cohombro.

Se utilizaron materos plásticos para cultivar las plantas bajo iluminación continua proveniente de lámparas fluorescentes. El suelo se esterilizó previamente en el autoclave a 121 C. Los resultados fueron positivos únicamente en el control de la pudrición de semillas de coliflor causada por Pythium sp. El aislamiento T17 de T. harzianum anuló la acción del patógeno cuando se aplicó al suelo en suspensión a la dosis de 13.2 x 10^6 esporas/g de suelo, 15 días antes de la inoculación del patógeno. El aislamiento T15 redujo la incidencia de la enfermedad a un 14 % a la dosis de 5.7 x 10^6 esp/g de suelo, mientras que el tratamiento con Pythium sp. presentó un 36 % de

pudrición de semillas.

Los niveles de pH del suelo de 5.0, 5.7 y 6.8 no afectaron significativamente la efectividad de los dos aislamientos para el control del patógeno, aunque los pH 5.7 y 6.8 estimularon una mayor incidencia de la pudrición de las semillas causada por Pythium sp. La aplicación de T. harzianum no controló la pudrición de semillas de coliflor causada por R. solani, ni la marchitez del pepino cohombro causada por F. oxysporum f. sp. cucumerinum. Las plantas sobrevivientes a las enfermedades presentaron mayor desarrollo foliar cuando fueron tratadas con Trichoderma harzianum.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

BIBLIOGRAFIA

1. AGRIOS, G. N. 1969. Plant Pathology. Academic Press, New York, 629 pp.

2. BAKER, K. F. and COOK J. 1982. Biological control of plant pathogens. The American Phytopathology Society, Minneapolis.

3. BAKER, R. 1983. Disease common to many herbaceous ornamentals: Damping-off. In: BAKER R., P. E. NELSON and R. LAWSON. Diseases of carnation. Colorado State University. pp 1-21.

4. BENSON, D.M. and R. BAKER. 1974. Epidemiology of Rhizoctonia solani preemergence damping-off of radish: Inoculum potential and disease potential interaction. Phytopathology 64: 957-962.

5. BENSON, D. M. and R. BAKER. 1974. Epidemiology of Rhizoctonia solani preemergence damping-off of radish: Survival. Phytopathology 64:1163-1168.

6. BORDA, F. 1984. Control biológico de Fusarium oxysporum causante de marchitamiento vascular en varios tipos de plantas con Trichoderma harzianum. Tesis de Grado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional, Bogotá.

7. CASAS G. E. y H. ROSERO. 1981. Reconocimiento e identificación de Phialophora cinerescens y Fusarium oxysporum f. sp. dianthi en el cultivo del clavel, Dianthus caryophyllus, en la sabana de Bogotá. Tesis de Grado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional, Bogotá.

8. CHANG Y. C. 1982. Biological, integrated control for Rhizoctonia solani caused diseases in some ornamental plants. M. S. Thesis, Colorado State University, Fort Collins, Colorado.

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

10. CHET I. and R. BAKER. 1980. Induction of suppressiveness to Rhizoctonia solani in soil. Phytopathology 70:994-998.

11. CHET I. and R. BAKER. 1981. Isolation and biocontrol potential of Trichoderma hamatum from soil naturally suppressive to Rhizoctonia. Phytopathology 71:286-290.

12. CHET, I., HADAR, Y., ELAD, Y., KATAN, J. and HENIS, Y. 1979. Biological control of soil-borne plant pathogens by Trichoderma harzianum. In: SCHIPPERS, B. and GAMS, W. Soilborne plant pathogens. Academic Press, London. pp 586-591.

13. DIMOND, A. E. and P. E. WAGGONER. 1953. The water economy of Fusarium wilted tomato plants. Phytopathology 43:619-626.

14. DOBSS, C. B. and W. H. HINSON. 1953. A widespread fungistasis in soils. Nature 172: 197-199.

15. ELAD, Y. F. HADAR, I. CHET and Y. HENIS. 1981. Biological control of Rhizoctonia solani by Trichoderma harzianum in carnation. Plant Disease 65: 675-677.

16. ELAD, Y., J. KATAN and I. CHET. 1980. Physical, biological and chemical control integrated for soilborne disease in potatoes. Phytopathology 70:418-422.

17. ELIAS, R. A. y O. ARCOS. 1984. Contribución al estudio del control biológico mediante el uso de diferentes especies de Trichoderma sobre Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani y Pythium sp. Tesis de Grado, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional, Bogotá.

18. FARLEY, J. D., N. HUBBELING and C. JABERG. 1974. Vertical dis-

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

tribution of Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici race 2 in a greenhouse soil. Plant Disease Rep. 58:320-321.

19. GRINSTEIN, A., ELAD, Y., KATAN, J. and I. CHET. 1979. Control of Sclerotium rolfsii by means ofherbicide and Trichoderma harzianum. Plant Disease Rep. 63:823-826

20. GUZMAN, E. S. y J. E. LEON. 1985. Control de la marchitez vascular causada por Fusarium oxysporum f. sp. dianthi y Phialophora cinerescens en el cultivo del clavel. Tesis de Grado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional, Bogotá.

21. HADAR, Y., CHET, I. and Y. HENIS. 1979. Biological control of Rhizoctonia solani damping-off with wheat bran culure of Trichoderma harzianum. Phytopathology 69:64-68.

22. HENIS, Y., GHAFFAR A. and R. BAKER. 1978. Integrated control of Rhizoctonia solani damping-off of radish Effect of successive plantings, PCNB and Trichoderma harzianum on pathogen and disease. Phytopathology 68:900-907.

23. HENIS, Y., GHAFFAR, A., BAKER R. and S. L. GILLESPIE. 1978. A new pellet soil sampler and its use for the study of population dinamycs of Rhizoctonia solani in soil. Phytopathology 68:371-376.

24. HUISMAN, O.C. 1982. Interrelations of root growth dynamics to epidemiology of root invading fungi. Ann. Rev. Phytopathology 20:303-327.

25. KRAFT, J.M. and G. C. PAPAVIZAS. 1983. Use of host resistance, Trichoderma and fungicides to control soilborne disease and increase seed yields of peas. Plant Disease 67:1234-1237.

26. LAURIE, A., KIPLINGER, D. and K. S. NELSON. 1962. Commercial flower forcing. Mc Graw Hill, New York.

27. LIFSHITZ, R., LIFSHITZ, S. and R. BAKER. 1985. Decrease in incidence of Rhizoctonia preemergence damping-off by use of integrated chemical and biological controls. Plant Disease 69:431-434.

28. LIN, Y. S. and R. J. COOK. 1979. Suppression of Fusarium roseum avenaceum by soil microorganisms. Phytopathology 69:384-385

29. LINDERMAN, R. G., MOORE, L.W., BAKER, K. F., and D. A. COOKSEY. 1983. Strategies for detecting and characterizing systems for biological control of soilborne plant pathogens. Plant Disease 67:1058-1064.

30. LIU, S. and R. BAKER. 1980. Mechanism of biological control in soil suppressive to Rhizoctonia solani. Phytopathology 70:404-412.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

31. ODVODY G. N., BOOSALIS, M. G., and E. D. KERR. 1980. Biological control of Rhizoctonia solani with a soil inhabiting basidiomycete. Phytopathology 70:655-658.

32. ROWE, R. C. 1980. Comparative pathogenicity and host ranges of Fusarium oxysporum isolates causing crown and root rot greenhouse and field ground tomatoes in North America and Japan. Phytopathology 70:1143-1148.

33. SCHER, F. M. and R. BAKER. 1980. Mechanism of biological control in a Fusarium suppressive soil. Phytopathology 70:412-417.

34. SCHER, F. M. and R. BAKER. 1982. Induction of suppressiveness in soil to Fusarium wilt pathogens with Pseudomonas putida and a synthetic iron chelate. Phytopathology 72:1567-1573.

35. SEQUEIRA, L. 1962. Influence of organic amendments on survival of Fusarium oxysporum f. sp. cubense in the soil. Phytopathology 52:976-982.

36. SHIPTON, P. J. 1977. Monoculture and soilborne plant pathogens. Ann. Rev. Phytopathology 15: 387-407.

37. SMITH, S. N. and W. C. SNYDER. 1972. Germination of Fusarium oxysporum in soil favorable and unfavorable to wilt esta-

blishment. Phytopathology 62: 273-277.

38. SMITH, S. N. 1977. Comparison of germination of pathogenic Fusarium oxysporum chlamydospores in host rhizosphere soils conducive to wilts. Phytopathology 67: 502-510.

39. SNEH, B. and Y. HENIS. 1972. Production of antigungal substances active against Rhizoctonia solani in chitin amended soil. Phytopathology 62:595-600.

40. STANGHELLINI, M. E. 1970. A quantitative method for the isolations of Pythium ultimum from soil. Phytopathology 60: 551-552.

41. WEINHOLD, A. R., DODMAN, R. L. and T. BOWMAN. 1973. Influence of exogenus nutrition on virulence of Rhizoctonia solani. Phytopathology 62: 278-281.

42. WHEELER, B. E. 1976. An introduction to plant diseases. John Wiley & sons, London. 374 pp.

43. ZAKARIA, M. J. and J. L. LOCKWOOD. 1980. Reduction in Fusarium populations in soil by oilseed meal amendments. Phytopathology 70:240-243.

44. ZENTMYER, G. A. and D. C. ERWIN. 1970. Development and repro-

duction of Phytophthora. Phytopathology 60:1120-1127.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA
DE COLOMBIA

ANEXO 1

Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum en la incidencia de Pythium sp. en coliflor

Pythium sp. % CPS	Antagonista(1)	Germinación(2) %	Agrupación(3)
0	0	72.2	a
0	T15	68.0	a
0	T17	70.1	a
8	0	45.8	c
8	T15	58.3	b
8	T17	74.3	a

(1) Dosis del antagonista:
Aislamiento T15: 5.7×10^6 esp/g de suelo;
Aislamiento T17: 13.2×10^6 esp/ gr de suelo.

(2) Siete días después de la siembra.

(3) Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

ANEXO 2

Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum en la incidencia de R. solani en coliflor

R. solani % CPS	Antagonista[1] T. harzianum	Plantas Vivas[2] %	Agrupación[3]
0	0	75.0	a
0	T15	65.5	a
0	T17	72.6	a
1	0	58.3	a
1	T15	47.6	a
1	T17	58.3	a

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

(1) Dosis del antagonista
Aislamiento T15: 6.0×10^6 esp./g de suelo,
Aislamiento T17: 7.7×10^6 esp /g de suelo.

(2) Con respecto al total de semillas sembradas, quince días después de la siembra

(3) Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

ANEXO 3

Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* en la incidencia de *F. oxysporum* en pepino cohombro

F. oxysporum % Avena -agua	Antagonista[1] *T. harzianum*	Plantas vivas[2] %	Agrupación[3]
0	0	82.0	a
0	T15	88.8	a
0	T17	82.3	a
3	0	39.3	b
3	T15	6.0	c
3	T17	16.0	c

(1) Dosis de los antagonistas
Aislamiento T15: 6.0×10^6 esp/ g de suelo,
Aislamiento T17: 7.7×10^6 esp/ g de suelo.

(2) Treinta días después de la siembra, con respecto al total de semillas sembradas.

(3) Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

ANEXO 4

Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum y Pythium sp. en el desarrollo foliar del coliflor

Pythium sp. % OPS	Antagonista[1] T. harzianum	Area Foliar[2] (cm^2/ matero)	Agrupación[3]
0	0	7.95	b
0	T15	10.15	ab
0	T17	9.35	b
8	0	4.90	c
8	T15	8.22	b
8	T17	12.45	a

(1) Dosis del antagonista
Aislamiento T15: 5.7 x 10^6 esp./g de suelo,
Aislamiento T17: 13.2 x 10^6 esp./g de suelo.

(2) Quince días después de la siembra.

(3) Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

ANEXO 5

Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum y R. solani en el desarrollo foliar del coliflor

R. solani % CPS	Antagonista(1) T. harzianum	Area Foliar(2) cm^2	Agrupación(3)
0	0	42.5	b
0	T15	75.2	a
0	T17	72.8	a
1	0	19.0	b
1	T15	37.5	b
1	T17	24.2	b

(1) Dosis del antagonista

Aislamiento T15: 7.8×10^6 esp./g de suelo,

Aislamiento T17: 11.3×10^6 esp./g de suelo.

(2) Cuarenta y siete días después de la siembra.

(3) Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

ANEXO 6

Efecto del pH del suelo en la incidencia de las enfermedades causadas por *Pythium* sp., *R. solani* y *F. oxysporum*

Patógeno[1]	pH	Incidencia[2] %	Agrupación[3]
Pythium sp.	5.0	0.0	d
	5.7	34.0	c
	6.8	20.1	e
R. solani	5.0	7.1	d
	6.2	46.0	c
	7.3	13.3	d
F. oxysporum	5.0	74.0	b
	6.2	89.7	a
	7.3	63.3	b

(1) *Pythium* sp. al 8% y *R. solani* al 1 % en CPS, inoculados en coliflor, y *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* inoculado en pepino cohombro.

(2) Quince días después de la siembra para *Pythium* sp. y *R. solani*, treinta días después de la siembra para *F. oxysporum*.

(3) Tratam ientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

ANEXO 7

Efecto del pH del suelo en la acción de Trichoderma harzianum sobre la germinación del coliflor

Antagonista[1] T. harzianum	pH	Germinación[2] %	Agrupación[3]
0	5.0	62.5	bc
0	5.7	56.2	c
0	6.8	58.3	bc
T15	5.0	77.1	a
T15	5.7	47.9	c
T15	6.8	64.6	b
T17	5.0	75.0	a
T17	5.7	68.8	b
T17	6.8	72.9	a

(1) Dosis del antagonista
Aislamiento T15: 5.7×10^6 esp./g de suelo,
Aislamiento T17: 13.2×10^6 esp./g de suelo.

(2) Quince días después de la siembra.

(3) Tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5% (Duncan).

ANEXO 8

ANAVA: Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* para el control de *Pythium* sp. en coliflor a 3 niveles de pH

F. V.	G.L.	C.M.	
T. harzianum	2	1089.7	++
Pythium sp.	1	2042.3	++
pH	2	1158.0	++
T. harzianum x *Pythium* sp.	2	1390.1	++
T. harzianum x pH	4	359.0	+
Pythium sp x pH	2	1479.3	++
T. harzianum x *Pythium* sp. x pH	4	139.9	++
Error	54	139.9	

C.V. = 18.2 %

Especificaciones del Ensayo

Dosis de los Microorganismos	Valores
Aislamiento T15	5.7×10^6 esp/g de suelo
Aislamiento T17	13.2×10^6 esp/g de suelo
Pythium sp.	8% en GPS
Niveles de pH	5.0, 5.7 y 6.8.

ANEXO 9

ANAVA: Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum en la incidencia de R. solani en coliflor, a 3 niveles de pH

F. V.	G. L.	C. M.	
pH	2	512.76	ns
R. solani	1	4765.97	++
T. harzianum	2	734.26	ns
pH x R. solani	2	1533.20	+
pH x T. harzianum	4	279.21	ns
R. solani x T. harzianum	2	19.87	ns
R. solani x T. harzianum x pH	4	423.57	ns
Error	54	365.69	

C. V. = 30.4 %

Especificaciones del Ensayo

Dosis de los microorganismos	Valores
Aislamiento T15	5.9×10^6 esp/g de suelo
Aislamiento T17	7.7×10^6 esp/g de suelo
R. solani	1 % en CPS
Niveles de pH	5.0, 6.2, 7.3.

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

ANEXO 10

ANAVA: Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum y F. oxysporum en la germinación y supervivencia del pepino

F. V.	G. L.	C. M.	
F. oxysporum	1	73856.06	++
T. harzianum	2	1276.72	++
pH	2	1304.43	++
F. oxysporum x T. harzianum	2	2403.38	++
F. oxysporum x pH	2	1307.76	++
T. harzianum x pH	4	457.53	ns
T. harzianum x pH x F. oxysporum	4	330.03	ns
Error	54	208.64	

C. V. = 27.5 %

Especificaciones del Ensayo

Dosis de los microorganismos	Valores
Aislamiento T15	5.9×10^6 esp/g de suelo
Aislamiento T17	7.7×10^6 esp/g de suelo
F. oxysporum	3% en Avena-agua
Niveles de pH	5.0, 6.2, 7.3

ANEXO 11

ANAVA: Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum en la incidencia de R. solani en coliflor. Ensayos con T15

F. V.	G. L.	C. M.	
T15	1	691.3	ns
R. solani	1	4591.2	++
Ensayo	1	1941.3	+
T15 x R. solani	1	230.7	ns
T15 x ensayo	1	1480.7	ns
R. solani x Ensayo	1	1965.0	+
R. solani x Ensayo x T15	1	412.3	ns
Error	24	407.6	

C. V. = 34.3 %

Especificaciones del Ensayo

Dosis de los microorganismos		Valores
Aislamiento T15	Ensayo 1	2.1×10^6 esp/g de suelo
	Ensayo 2	7.8×10^6 esp/g de suelo
R. solani	Ensayo 1	1 % en CPS
	Ensayo 2	1 % en CPS

ANEXO 11 (Continuación)

ANAVA: Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum en la incidencia de R. solani en coliflor. Ensayos con aislamiento T17

F. V.	G. L.	C. M.	
T17	1	414.0	ns
R. solani	1	9453.2	++
Ensayo	1	1943.2	+
T17 x R. solani	1	228.6	+
T17 x Ensayo	1	1479.0	+
R. solani x Ensayo	1	1963.0	+
R. solani x Ensayo x T17	1	416.2	ns
Error	24	332.3	

C. V. = 31.0 %

Especificaciones del Ensayo

Dosis de los Microorganismos		Valores
Aislamiento T17	Ensayo 1	8.0×10^6 esp/g de suelo
	Ensayo 2	11.0×10^6 esp/g de suelo
R. solani	Ensayo 1	1 % en CPS
	Ensayo 2	1 % en CPS

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

ANEXO 12

ANAVA: Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum en la incidencia de F. oxysporum en pepino. Ensayos con aisl. T15

F. V.	G. L.	C. M.	
F. oxysporum	1	19481.02	++
T15	1	111.02	ns
Ensayo	2	5080.33	++
F. oxysporum x T15	1	2929.69	+
F. oxysporum x Ensayo	2	4905.58	++
T15 x Ensayo	2	723.58	ns
T15 x Ensayo x F. oxysporum	2	729.75	ns
Error	36	679.42	

C. V. = 40 %

Especificaciones del Ensayo

Dosis de los Microorganismos		Valores
Aislamiento T15	Ensayo 1	2.0×10^6 esp/g de suelo
	Ensayo 2	2.8×10^6 esp/g de suelo
	Ensayo 3	7.8×10^6 esp/g de suelo
F. oxysporum	Ensayo 1	3 % en Avena-Agua
	Ensayo 2	3 % en Avena-Agua
	Ensayo 3	3 % en Avena-Agua

ANEXO 12 (Continúación)

ANAVA: Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* en la incidencia de *F. oxysporum* en pepino. Ensayos con aisl. T17

F. V.	G. L.	C. M.	
F. oxysporum	1	3553.52	+
T17	1	379.69	ns
Ensayo	2	7228.94	++
F. oxysporum x T17	1	945.19	ns
F. oxysporum x Ensayo	2	2359.77	+
T17 x Ensayo	2	1653.06	ns
T17 x Ensayo x *F. oxysporum*	2	298.31	ns
Error	36	543.22	

C. V. = 32.3 %

Especificaciones del Ensayo

Dosis de los Microorganismos		Valores
Aislamiento T17	Ensayo 1	8.1×10^6 esp/g de suelo
	Ensayo 2	9.6×10^6 esp/g de suelo
	Ensayo 3	7.7×10^6 esp/g de suelo
F. oxysporum	Ensayo 1	3 % en Avena Agua
	Ensayo 2	3 % en Avena Agua
	Ensayo 3	3 % en Avena Agua

BIBLIOTECA AGROPECUARIA DE COLOMBIA

ANEXO 13

ANAVA: Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum para el control de Pythium sp. en el área foliar del coliflor a 3 niveles de pH

F. V.	G. L.	C. M.	
Pythium sp.	1	85.63	ns
T. harzianum	2	1475.06	++
pH	2	292.16	ns
Pythium sp. x T. harzianum	2	767.80	++
Pythium sp x pH	2	342.58	ns
T. harzianum x pH	4	439.14	ns
Pythium sp. x T. harzianum x pH	4	50.49	ns
Error	36	126.57	

C. V. = 31.8 %

Especificaciones del Ensayo

Dosis de los microorganismos	Valores
Aislamiento T15	5.7×10^6 esp/g de suelo
Aislamiento T17	13.2×10^6 esp/g de suelo
Pythium sp.	8 % en CPS
Niveles de pH	5.0, 5.7, 6.8

ANEXO 14

ANAVA: Efecto de la aplicación de Trichoderma harzianum y R. solani en el área foliar del coliflor, a 3 niveles de pH

F. V.	G. L.	C. M.	
R. solani	1	0.0037	ns
pH	2	42.2335	++
T. harzianum	2	0.4182	ns
R. solani x pH	2	1.9684	+
R. solani x T. harzianum	2	0.0654	ns
pH x T. harzianum	4	0.5442	ns
R. solani x pH x T. harzianum	4	0.3084	ns
Error	55	0.6176	

C. V. = 16.6 %

Especificaciones del Ensayo

Dosis de los Microorganismos	Valores
Aislamiento T15	5.9×10^6 esp./g de suelo
Aislamiento T17	7.7×10^6 esp./g de suelo
R. solani	1 % en SPS
Niveles de pH	5.0, 6.2, y 7.3