



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

TEMA:

Evaluación de tres cepas de *Trichoderma* para el control de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis* var *flavicarpa*)

TESIS DE GRADO

Previa la obtención del Título

INGENIERO AGROPECUARIO

con mención en Gestión Empresarial Agropecuaria

ELABORADO POR:

RODRIGO FERNANDO ESPINOZA LOZANO

GUAYAQUIL, ENERO DE 2013



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por el señor Rodrigo Fernando Espinoza Lozano como requerimiento parcial para la obtención del título de INGENIERO AGROPECUARIO.

Guayaquil, Enero de 2014

TUTOR

REVISIÓN REDACCIÓN TÉCNICA

.....

(Ing. Ricardo Moreira Macías, M. Sc.)

.....

(Econ. Miguel Riofrío)

REVISIÓN ESTADÍSTICA

REVISIÓN DEL SUMMARY

.....

(Ing. Ricardo Guaman Jimenez, M. Sc.)

.....

(Dr. Pablo Haro Encalada)



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

INGENIERÍA AGROPECUARIA

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

RODRIGO FERNANDO ESPINOZA LOZANO

DECLARO QUE:

El proyecto de grado denominado “Evaluación de tres cepas de *Trichoderma* para el control de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis* var *flavicarpa*)”, ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan al pie de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía.

Consecuentemente este trabajo es de autoría propia.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del proyecto de grado en mención.

Guayaquil, Enero de 2014

EL AUTOR

RODRIGO FERNANDO ESPINOZA LOZANO



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN

Yo, RODRIGO FERNANDO ESPINOZA LOZANO

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, la publicación, en la biblioteca de la institución del proyecto titulado: “Evaluación de tres cepas de *Trichoderma* para el control de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis* var *flavicarpa*)”, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Guayaquil, Enero de 2014

LOS AUTORES

RODRIGO FERNANDO ESPINOZA LOZANO

RESUMEN

El cultivo de maracuyá en Ecuador es de gran importancia por ser un cultivo de alto rendimiento y poseer cosecha durante todo el año. Sin embargo; la producción muchas veces se ve afectada por el ataque de *Fusarium oxysporum* causando la pudrición del cuello del tallo y pérdidas de hasta el 100 %, la utilización de biocontroladores es una de las alternativas más importantes hoy en día para el manejo de esta enfermedad, además, este método es amigable con el medio ambiente. Esta investigación consistió en realizar un estudio de la capacidad de *Trichoderma* para controlar el crecimiento de *F. oxysporum* en condiciones de laboratorio e invernadero. Para esto se utilizaron las especies: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* y *Trichoderma* sp. y una de *F. oxysporum*, realizando cultivos duales se determinó que la especie que ejecutó un mayor control fue *T. harzianum* (41.3 % de inhibición). Para el ensayo de invernadero se utilizó un Diseño Completamente al Azar con 11 tratamientos y 3 observaciones por cada uno de ellos. Se esterilizó sustrato y se distribuyó en las fundas según los tratamientos, *F. oxysporum* fue inoculado a una concentración de 1.00×10^6 UFC/ml, 7 días después se inocularon las cepas de *Trichoderma* en 3 dosis por cada cepa (4.00×10^6 , 6.67×10^6 y 1.00×10^9 UFC/ml), el trasplante fue realizado a las fundas 3 días después de la inoculación de las cepas de *Trichoderma*, las plantas fueron evaluadas semanalmente durante un mes y no se encontraron diferencias en el crecimiento ni daños ocasionados. Finalmente, terminadas las evaluaciones, se pesó y se midió el volumen de las raíces encontrando diferencias altamente significativas dentro de los tratamientos controles y sin existir diferencias dentro de los tratamientos inoculados con *Trichoderma*. Los resultados sugieren que *in vitro* las tres especies de *Trichoderma* ejercieron un control marcado del crecimiento de *F. oxysporum*. En invernadero los tratamientos inoculados con las especies de *Trichoderma* si demostraron mayor cantidad de raíces comparadas con el testigo inoculado solo con el patógeno.

SUMMARY

The cultivation of passion fruit in Ecuador is of great importance as a culture of high performance and is harvest throughout the year. However, the production is often affected by *Fusarium oxysporum* attack causing collar rot and stem losses up to 100%, the use of biocontrol agents is one of today's most important alternatives today for the management of this disease in addition, this method is environment-friendly. This research involved a study of the ability of *Trichoderma* to control the growth of *Fusarium oxysporum* in laboratory and greenhouse conditions. For this were used three *Trichoderma* species: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* and *Trichoderma* sp. and one species of *F. oxysporum* performing dual cultures was determined that the species that performed better control was *T. harzianum* (41.3% inhibition). For the greenhouse experiment used a completely randomized design with 11 treatments and 3 observations each. The substrate was sterilized and distributed into the bags according to the treatments, *F. oxysporum* was inoculated at a concentration of 1.00×10^6 CFU/ml, 7 days later the *Trichoderma* species were inoculated in 3 doses per species (4.00×10^6 , 6.67×10^6 and 1.00×10^9 CFU/ ml), the transplantation was carried out into bags, 3 days after inoculation of the *Trichoderma* species, the plants were evaluated weekly for a month and there was no difference in growth or damage. Finally, completed the assessments, they were weighed and measured the volume of the roots significant differences were found within the control treatments and no differences in the treatments inoculated with *Trichoderma*. The results suggest that in vitro the three *Trichoderma* species exerted a marked control in the *F. oxysporum* growth. In greenhouse the treatment inoculated with *Trichoderma* species showed increased root number in comparison with the control that was inoculated with only the pathogen.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	V
SUMMARY	VI
ÍNDICE GENERAL	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivo General	2
1.2 Objetivos Específicos	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Descripción del cultivo de maracuyá	3
2.1.1 Clasificación taxonómica	3
2.1.2 Descripción botánica	3
2.1.3 Requerimientos climáticos y edáficos de la maracuyá	4
2.1.4 Propagación	5
2.1.5 Principales enfermedades de la maracuyá	6
2.2 Pudrición del tallo causada por fusarium (<i>Fusarium oxysporum</i>)	7
2.2.1 Sintomatología de la enfermedad	9
2.2.2 Morfología de <i>Fusarium oxysporum</i>	9
2.2.3 Manejo de la enfermedad	10
2.2.4 Métodos para el control de <i>F. oxysporum</i>	11
2.3 Controladores biológicos	12
2.3.1 Aspectos generales de <i>Trichoderma</i>	12
2.3.2 Mecanismos de acción de <i>Trichoderma</i>	14
2.3.2.1 Competencia	15

2.3.2.2 Micoparasitismo	16
2.3.2.3 Antibiosis	19
3. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1 Ubicación	22
3.2 Duración	22
3.3 Materiales de Laboratorio	22
3.4 Materiales para Invernadero	23
3.5 Materiales biológicos	23
3.6 Fase de laboratorio	24
3.6.1 Tratamientos estudiados	24
3.6.2 Diseño Experimental	24
3.6.3 Análisis de varianza	25
3.6.4 Análisis funcional	25
3.6.5 Estudio del efecto de <i>Trichoderma</i> sobre <i>F. oxysporum</i>	25
3.6.6 Variables evaluadas	26
3.6.6.1 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial	26
3.6.6.2 Capacidad antagonista	27
3.7 Fase de invernadero	26
3.7.1 Tratamientos estudiados	27
3.7.2 Diseño experimental	28
3.7.3 Análisis de varianza	28
3.7.4 Análisis funcional	29
3.7.5 Siembra de semillas en bandejas de germinación	29
3.7.6 Obtención de suspensiones de esporas de <i>F. oxysporum</i> y <i>Trichoderma</i> ...	29
3.7.7 Preparación de sustrato a utilizarse en llenado de fundas	30
3.7.8 Inoculación de sustrato las suspensiones de esporas	30
3.7.9 Transplante de plántulas a fundas	32
3.7.10 Variables evaluadas en invernadero	32

3.7.10.1	Número de plantas muertas por semana	32
3.7.10.2	Severidad de la infección por planta	33
3.7.10.3	Altura de plantas	33
3.7.10.4	Volumen de la raíz	33
3.7.10.5	Peso de la raíz	33
4.	RESULTADOS	34
4.1	Fase de laboratorio	34
4.1.1	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial	35
4.1.2	Capacidad antagonista (micoparasitismo)	35
4.2	Fase de invernadero.....	36
4.2.1	Número de plantas muertas por semana	36
4.2.2	Severidad de la infección por planta	36
4.2.3	Altura de plantas	37
4.2.4	Volumen de la raíz	39
4.2.5	Peso de la raíz	41
5.	DISCUSIÓN	43
6.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	46
	BIBLIOGRAFÍA	48
	ANEXOS	54

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- ANDEVA de las pruebas <i>in vitro</i>	25
Cuadro 2.- Escala para la evaluación de la capacidad antagónica (micoparasitismo).....	27
Cuadro 3.- ANDEVA de las pruebas en Invernadero	30
Cuadro 4.- Concentración y distribución de aplicación de <i>F. oxysporum</i> sobre el sustrato	32
Cuadro 5.- Concentración y distribución de aplicación de las 3 cepas de <i>Trichoderma</i>	33
Cuadro 6.- Escala arbitraria para evaluación de daños	34
Cuadro 7.- Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de la colonia del hongo	36
Cuadro 8.- Porcentaje de capacidad antagonista descrito por número de cajas por micoparasitismo en cajas de Petri	37
Cuadro 9.- Promedios de crecimiento de plantas por semana para cada uno de los tratamientos en el invernadero	38
Cuadro 10.- Promedios de volumen de raíces de plántulas de maracuyá	39
Cuadro 11.- Promedios de peso de raíces de plántulas de maracuyá al finalizar el ensayo..	40

1. INTRODUCCIÓN

La maracuyá (*Passiflora edulis*) conocida internacionalmente como la fruta de la pasión pertenece a la familia de las *Passifloraceae*, al género *Passiflora*, tiene origen en la cuenca brasileña del río Amazonas, pero en el siglo XIX se distribuyó ampliamente en los trópicos y sub-trópicos por las características que tiene su fruto el que se lo utiliza como diurético, algunos nativos de distintas zonas de Brasil utilizan sus hojas y frutos como medicina natural¹. En el año 2007 la producción mundial de maracuyá se ha estimado en 805 000 toneladas, siendo Brasil el principal productor con el 56 % de esta producción, seguido de Ecuador 250 000 y Colombia 30 000 toneladas².

La siembra intensiva y extensiva de un cultivo incrementa los problemas sanitarios y la maracuyá no es la excepción, esta es una planta de ciclo largo (18 a 24 meses), periodo durante el cual está expuesta al ataque de patógenos e insectos dañinos, cuyas poblaciones fluctúan según las condiciones climáticas, de los suelos y del manejo del cultivo, entre los insectos que mayor daño causan al cultivo están el lorito verde (*Diabrotica* sp.) y la mosca de la fruta (*Anastrepha* sp.).

Una de las principales enfermedades que aqueja a este cultivo es la pudrición del tallo y las raíces, que se caracteriza por la destrucción de los vasos conductores de la planta, el agente causal de esta enfermedad es el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*, que es considerado uno de los microorganismos patógenos más agresivos que habita el suelo pudiendo sobrevivir por largos periodos de tiempo en la materia orgánica del suelo y la rizósfera de las plantas.

El método de control más utilizado son los productos químicos, sin embargo, su utilización en exceso ocasiona una pérdida significativa de los microorganismos benéficos del suelo, además de tener efectos nocivos para los seres humanos.

¹ **Beraldo y Myiake, 2010.** Morfoanatomia de folhas e caules de *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. Revista braileña farmacogn. 20ª Ed. Pág. 233 – 239. Curitiba, Brasil.

² **Fisher y Rezende, 2008.** Diseases of Passion Flower (*Passiflora* sp.). Pest Technology. Brasil. Pág 2.

Una alternativa para evitar o reducir el uso de los productos químicos en la agricultura es la utilización de controladores biológicos, que además de ser una alternativa de bajo costo a largo plazo, también es amigable con el medio ambiente, el control biológico como tal se refiere a la utilización de organismos vivos o sus productos, para evitar o reducir pérdidas y daños ocasionados por organismos plagas o causantes de enfermedades, sin embargo, a pesar de su importancia, poco se ha hecho en el Ecuador para introducir y desarrollar estas técnicas de forma masiva y en ensayos de campo.

Entre los biocontroladores que más se utilizan en el ámbito internacional se encuentran diferentes especies del género *Trichoderma*, que se caracterizan por su eficacia en el control de fitopatógenos de suelo. Entre las diferentes propiedades de *Trichoderma* que lo hacen eficiente para el biocontrol está su capacidad reproductiva, plasticidad ecológica, efecto estimulante sobre las planta, además, la competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis y resistencia inducida y amplio rango de control de patógenos tales como *F. oxysporum*, *Alternaria* sp., *Phytophthora* sp., entre otros.

Frente a este panorama, la realización del siguiente trabajo de investigación persigue los siguientes objetivos:

1.1 Objetivos

1.1.1 General

- Evaluar la capacidad de tres cepas nativas de *Trichoderma* sobre el crecimiento y desarrollo de *Fusarium oxysporum* en condiciones controladas.

1.1.2 Específicos

- Determinar la capacidad antagónica de tres cepas de *Trichoderma* para controlar el crecimiento de *F. oxysporum* en laboratorio.
- Determinar la presencia de *F. oxysporum* en plantas de maracuyá en las etapas de invernadero mediante cultivo *in vitro*.
- Evaluar el efecto de tres dosis de *Trichoderma* por cada cepa en el control de *F. oxysporum* en invernadero.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Descripción del cultivo de maracuyá

2.1.1 Clasificación taxonómica

Se considera que el centro de origen es Brasil, específicamente la región del Amazonas.

La clasificación taxonómica de la maracuyá es la siguiente:

Orden: Passiflorales

Familia: Passifloraceae

Género: *Passiflora*

Especie: *Passiflora edulis* forma *flavicarpa*

Este fruto es conocido en otras partes del mundo también como maracuyá amarillo, parchita, calala, maracujá, yellow passion-fruit (Bernacci *et al*, 2008).

2.1.2 Descripción botánica

La maracuyá es una planta trepadora, vigorosa, de consistencia leñosa y ciclo semiperenne, que necesita de un soporte o tutor para desarrollarse, alcanzando sus ramas hasta 20 metros de largo

El sistema radicular es totalmente ramificado, sin raíz pivotante, superficial, distribuido en un 90 % en los primeros 0.15 – 0.45 m de profundidad, por lo que es importante no realizar labores culturales que remuevan el suelo. El 68 % del total de raíces se encuentran a una distancia de 0.60 m del tronco, factor a considerar al momento de la fertilización y riego.

Las hojas son simples, alternas, comúnmente trilobuladas o digitadas, con márgenes finamente dentados, miden de 7 a 20 cm de largo y son de color verde profundo, brillante en el haz y pálido en el envés.

Las flores son hermafroditas (perfectas), con un androginóforo bien desarrollado. Nacen solitarias en las axilas, sostenidas por 3 grandes brácteas verdes que se asemejan a hojas. Las flores consisten de 3 sépalos de color blanco verdoso, 5 pétalos blancos y una corona formada por un abanico de filamentos que irradian hacia fuera, cuya base es de un color púrpura; estos filamentos tienen la función de atraer a los insectos polinizadores.

El fruto es una baya, de forma globosa u ovoide, con un diámetro de 0.04 – 0.08 m y de 0.06 – 0.08 m de largo, la base y el ápice son redondeados, la corteza es de color amarillo, de consistencia dura, lisa y cerosa, de unos 0.003 m de espesor; el pericarpio es grueso, contiene de 200 – 300 semillas, cada una rodeada de un arilo (membrana mucilaginosa) que contiene un jugo aromático en el cual se encuentran las vitaminas y otros nutrientes.

La semilla es de color negro o violeta oscuro, cada semilla representa un ovario fecundado por un grano de polen, por lo que el número de semillas, el peso del fruto y la producción de jugo están correlacionados con el número de granos de polen depositados sobre el estigma. Dicho número no debe ser menor de 190. Las semillas están constituidas por aceites en un 20 – 25 % y un 10 % de proteína. En condiciones ambientales, la semilla mantiene su poder germinativo por 3 meses, y en refrigeración, hasta 12 meses (García, 2002).

2.1.3 Requerimientos climáticos y edáficos de la maracuyá

La temperatura óptima para un buen desarrollo de la maracuyá es entre los 23 – 25 °C; aunque se adapta desde los 21 °C hasta los 32 °C, Con respecto a la altitud, comercialmente se puede cultivar desde el nivel del mar hasta los 1 000 msnm, con una humedad relativa del 60 % (García, 2002).

El cultivo requiere de una precipitación anual de 800 – 1 750 mm y una mínima mensual de 80 mm, además en las etapas de floración y producción de frutos las plantas no deben ser sometidas a algún tipo de estrés hídrico ya que este podría ocasionar grandes pérdidas en la producción y se recomienda tener fuente constante de agua que supla con los requerimientos del cultivo (Dorado, 2010).

La maracuyá es una planta que requiere un mínimo de 11 horas de luz diaria para poder florecer, por ser un cultivo hasta cierto punto rústico, se puede cultivar en suelos desde arenosos hasta arcillosos, siendo preferibles los de textura areno arcillosa que tenga una profundidad mínima de 60 cm, un buen drenaje y una fertilidad de media a alta con un pH de 5.5 – 7.0, aunque el cultivo puede llegar a tolerar un pH de hasta 8 (Dorado, 2010).

2.1.4 Propagación

La propagación de la maracuyá puede realizarse de distintas maneras, por semillas, por esqueje y por injerto; siendo la más importante y más utilizada la que se da por medio de semillas, ya que esta proporciona plantas más vigorosas, pero con el inconveniente de que no siempre presentan las mismas características de las plantas madres por el problema de la polinización cruzada. La propagación por esquejes también se da con bastante frecuencia ya que este método proporciona todas las características deseables de las plantas de donde se tomó la parte vegetativa para reproducir, la propagación por injerto no es muy utilizada (Cadena Frutícola del Huila, 2006)

La etapa del vivero es fundamental para el buen desarrollo a futuro de las plantas ya que de esta depende el futuro desarrollo de las plantas en campo, además en esta etapa se debe realizar la elección de las plantas que presenten las mejores características. Entre las actividades más importantes de esta etapa están las siguientes:

- Preparación del sustrato, se recomienda utilizar sustratos porosos que faciliten la emisión de las primeras raíces y hojas.
- Siembra de las semillas en bolsas de polietileno negras.
- Establecimiento de las bolsas de polietileno bajo sombra permanente.
- Riego diario, de preferencia dos veces por día evitando encharcamiento (García, 2002).

2.1.5 Principales enfermedades de la maracuyá

Según la Cadena Frutícola del Huila (2006), la mayor cantidad de pérdidas en un cultivo de maracuyá se da a causa de las enfermedades ocasionadas por agentes bacterianos o fúngicos, estos pueden ocasionar pérdidas totales del cultivo cuando no se previene su manifestación en el tiempo justo. Entre las enfermedades de mayor importancia económica tenemos las siguientes:

- **Mal del talluelo** (*Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp.)

Los hongos viven en el suelo y los cuatro provocan síntomas similares, solamente a través del laboratorio se puede hacer un diagnóstico certero.

Ataca a nivel de invernadero y en plantaciones jóvenes y adultas. La enfermedad es favorecida por los excesos de agua y falta de aire y luz. El hongo invade los tejidos del cuello, causando un estrangulamiento y una lesión necrótica, en este lugar la planta sufre un debilitamiento, provocando un doblamiento y posteriormente la muerte.

- **Antracnosis** (*Colletotrichum gloeosporioides*)

Este hongo afecta a hojas, guías y frutos. En las hojas los síntomas aparecen en los márgenes, y se manifiesta como manchas acuosas de forma circular de 5 mm de diámetro, presentan un halo de color verde oscuro; en las guías se observan lesiones alargadas; en los frutos las lesiones se presentan como depresiones o áreas hundidas con pudrición seca, causando un arrugamiento precoz del área afectada, la pudrición llega a la parte interna y finalmente el fruto cae. En las áreas necróticas se observan anillos concéntricos de puntos negros, que son las fructificaciones del hongo.

- **Verrugosis o roña** (*Cladosporium herbarum*.)

Es una enfermedad típica de los tejidos tiernos, aparece siempre en los brotes y frutos pequeños (menores de 3 cm). En las hojas los síntomas se manifiestan como lesiones circulares de 3 – 5 mm rodeadas de un halo amarillo cuando inicia la enfermedad, pero después toda la lesión se vuelve de color rojizo. En las guías las lesiones son longitudinales,

formando una ralladura color marrón asemejándose a una canoa. En los frutos, los síntomas se inician como una decoloración de los tejidos, posteriormente se vuelven acuosos, luego con el secamiento de los tejidos aparecen lesiones en forma de verrugas. Internamente el fruto no sufre daño, limitándose la enfermedad a la parte externa de la cáscara.

- **Mancha parda** (*Alternaria passiflorae*)

En las hojas aparecen primero pequeñas manchas oscuras, se alargan tomando forma angular y color claro en el centro, en los tallos aparecen lesiones alargada de color marrón oscura cerca de las axilas de las hojas, en los frutos aparecen pequeñas pecas las cuales crecen formando anillos concéntricos de color marrón oscuro. La corteza alrededor de la lesión se pliega e igualmente los frutos se arrugan y se caen.

2.2 Pudrición del tallo causada por fusarium (*Fusarium oxysporum*)

Esta enfermedad también es conocida como secadera de la maracuyá, fusariosis entre otras, se caracteriza por la destrucción de los vasos conductores de la planta, en especial del xilema, un efecto grave de la presencia de esta enfermedad en una región es la permanencia del inoculo del agente causal, lo que invariablemente obliga a los productores a cambiar de cultivo, generando así un proceso migratorio del cultivo de maracuyá y de otras pasifloras (Cadena Frutícola del Huila, 2006).

La diseminación de este patógeno se relaciona con el material vegetal de propagación, porque la selección de semillas no es la adecuada y no cumple con los estándares mínimos de calidad, lo que lleva a una alta infección de microorganismos fungosos, uno de ellos *Fusarium*. También inciden factores como el agua de riego, las lluvias fuertes o el viento, que son considerados agentes de diseminación de conidios y estructuras reproductivas del hongo. (Alexopoulos y Mins, 1985 y Agrios, 2005). Esta enfermedad se ve favorecida por el mal drenaje, bajo contenido de materia orgánica de los suelos y periodos lluviosos continuos (Bedoya y Medina, 1982; Torres *et al.*, 2000 y Sánchez M., 2003).

Fusarium es un hongo cosmopolita que afecta muchas especies vegetales y es difícil de controlar.

Larkin y Fravel, explican que todas las cepas de *F. oxysporum* son saprofitas y son capaces de crecer y sobrevivir por largos periodos en la materia orgánica del suelo y en la rizósfera de las plantas. Muchas cepas de *F. oxysporum* son patógenas de una diversidad muy grande de plantas y son las causantes de pérdidas parciales y hasta totales de un cultivo, además algunas de estas causan traqueomicosis cuando afectan el sistema vascular de la planta (Larkin, 1998).

Como principal agente causal de la pudrición se ha registrado a *Fusarium oxysporum* f. sp. *Passiflorae* (Díaz, 1998; Rico *et al.*, 2001; Gómez, 2008).

Las principales lesiones que se observan cuando existe el ataque de este patógeno se dan en las raíces primarias y secundarias. Con la presencia de raíces en el lugar donde están las esporas de resistencia del hongo (clamidosporas), estas empiezan a germinar y se inicia el proceso de infección. Las hifas del hongo se adhieren a las raíces de la planta penetrándolas directamente, y una vez adentro, el micelio avanza hasta alcanzar el sistema vascular de la planta, específicamente el sistema xilemático, que es el conjunto de células leñosas por donde circula el agua y las sales minerales disueltas en ella. En este punto, el hongo utiliza el xilema como un sistema de avenidas por donde rápidamente puede diseminarse, no solamente mediante el crecimiento rápido de sus hifas sino también produciendo pequeñas esporas, muy abundantes, conocidas como microconidias, las que fácilmente pueden circular en el flujo de agua e ir invadiendo toda la planta (Di Prieto *et al.*, 2003).

Con el crecimiento y desarrollo del hongo la planta reacciona tratando de impedir su avance, para lo cual genera geles o gomas y tilosas, que funcionan como barreras físicas y químicas que pretenden detener la evolución de la infección (Sun y Matthews, 2008).

2.2.1 Sintomatología de la enfermedad

En plantas adultas, en estados iniciales de infección, empieza a observarse clorosis de las hojas jóvenes, mientras que las hojas más viejas presentan epinastia o decaimiento; gradualmente, la deshidratación se va haciendo más severa, afectando cada vez un mayor número de hojas y ramas hasta que toda la planta se observa totalmente marchita, sus frutos deshidratados no alcanzan la madurez, el número de flores disminuye considerablemente y en algunos casos es posible observar la formación de abundante micelio al interior del tallo (Agrios, 2005).

Este autor también informa que plántulas jóvenes se produce amarillamiento de las hojas bajas, las cuales rápidamente caen produciéndose defoliación severa de la planta; simultáneamente se observan tasas de crecimiento menores en las plántulas enfermas, y en menor tiempo, comparado con las plantas adultas, ocurre la muerte.

En cualquier caso, hay un síntoma bastante particular de la presencia de *Fusarium* en la planta, y es la coloración marrón o café – rojizo de los haces vasculares que se observa al realizar un corte transversal del tallo o de las ramas enfermas.

2.2.2 Morfología de *Fusarium oxysporum*

Morfológicamente en laboratorio *Fusarium* sp., produce tres clases de esporas:

- **Microconidias:** Esporas unicelulares, sin septas, hialinas, elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvadas; se forman sobre fiálides laterales, cortas, simples o sobre conidióforos poco ramificados. Las microconidias tienen 5 – 12 micras de largo por 2.5 – 3.5 micras de ancho (Cadena Frutícola del Huila, 2006).
- **Macroconidias:** Esporas de paredes delgadas, fusiformes, largas, moderadamente curvadas en forma de hoz, con varias células y de 3 a 5 septas transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada; las macroconidias tiene un tamaño de 27 a 46 micras de largo por 3.0 a 4.5 micras de ancho (Cadena Frutícola del Huila, 2006).

- **Clamidosporas:** Esporas formadas a partir de la condensación del contenido de las hifas y de las conidias, de paredes gruesas. Se forman simples o en pares, terminales o intercalares: poseen un tamaño de 5 a 15 micras de diámetro, gracias a ellas el hongo sobrevive en condiciones ambientales desfavorables y en el suelo como saprófito de vida libre en ausencia de plantas hospedantes. Las conidias son fácilmente reconocibles al microscopio por su forma de media luna o de canoa (Cadena Frutícola del Huila, 2006).

F. oxysporum, se caracteriza por producir colonias de rápido crecimiento, con una tasa diaria cercana a un centímetro en medio Papa Dextrosa Agar (PDA) a 25 °C; la morfología de las colonias es muy variable y puede presentar dos tipos: una de tipo micelial caracterizada por la producción de abundante micelio aéreo, algodonoso, con una coloración variable, de blanco a rosado durazno, pero usualmente con un tinte púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar y pocas microconidias, y una de tipo pionotal con la formación de poco o ningún micelio aéreo y abundantes microconidias (Larkin, 1998).

2.2.3 Manejo de la enfermedad

Debido a las reconocidas dificultades en el manejo de esta enfermedad, la primera recomendación es evitar sembrar en zonas donde previamente se haya presentado la infección por este patógeno, incluso si se presentó en otro tipo de cultivos, pues se ha comprobado que bajo ciertas circunstancias puede llegar también a afectar el cultivo de maracuyá. Se recomienda el uso de plántulas de viveros reconocidos, los cuales certifiquen que el lote adquirido está libre de patógenos (Fischer y Rezende, 2008); pueden ser un poco más costosas, pero se puede estar más tranquilo en cuanto al material utilizado y a largo plazo se convierten en una inversión más segura.

Desafortunadamente aún no existe material resistente contra esta enfermedad, pues el uso de injertos es una tecnología que aún no se ha adoptado por sus elevados costos (Castaño, 2009). Se recomienda tener cuidado con la pureza de las fuentes de agua, las distancias de siembra y nutrición adecuadas, y las demás labores culturales como no causar heridas, desinfectar

herramientas de trabajo y aplicar cicatrizantes en los cortes (Guerrero-López y Hoyos-Carvajal, 2011).

Una vez que la enfermedad se presenta en el cultivo, la aplicación de fungicidas no es eficaz, por lo que se recomienda manejar con prontitud y rigurosidad el foco de infección antes de que se disemine a la totalidad de las plantas del cultivo.

Debido a que es un patógeno del suelo que se confina al interior de la planta, su dispersión dentro de la planta es rápida, pero entre plantas es más limitada, por lo que se sugiere erradicar cuidadosamente las plantas efectivamente diagnosticadas con la enfermedad en las cuales se haya comprobado la aparición de coloraciones café – rojizas en tejidos de ramas o tallos. Es muy importante sacar las plantas enfermas del lote e incinerarlas, porque dentro de ellas va el agente causal de nuevas infecciones. Finalmente, debe demarcarse de manera apropiada, aislando el sitio donde se presentó el foco de infección, pues no debe olvidarse que el patógeno ha quedado en el suelo y que, de no cuidarse el tránsito por este lugar, se puede llevar en las botas o con el paso de animales, aumentando la afección en el lote (Guerrero-López y Hoyos-Carvajal, 2011).

2.2.4 Métodos para el control de *F. oxysporum*

Cebolla (1994), señala que no existe un control efectivo para detener la muerte de la planta después que la infección se ha dado. Así, el control se basa en la prevención.

La desinfección de suelos con desinfectantes antes de la plantación y posteriormente un control, suprimirán los hongos en el suelo y protegerán a las plantas contra una infección. El mejor método de prevención podría ser el uso de material vegetal tolerante o resistente.

- **Métodos químicos**

La utilización de fungicidas químicos sistémicos como benalaxyl, furalaxyl, isoprothiolane y otros son muy comunes en la desinfección de los suelos antes y después de la siembra del cultivo, pero la aplicación desmedida de estos productos ocasiona pérdidas irreparables para

el suelo ya que elimina la mayoría de los hongos que sirven como controladores de ciertos patógenos.

- **Métodos biológicos**

Los métodos biológicos más utilizados para el control de *F. oxysporum* son la solarización de los sustratos antes de realizar el llenado de las fundas para el vivero, esta técnica consiste en cubrir el suelo con un plástico que no sea negro y dejarlo durante 20 días a la exposición del sol, esto aumenta significativamente la temperatura y por ende la muerte de gran cantidad de patógenos que se encuentran en el sustrato.

Otro método muy utilizado para el control de *F. oxysporum* es la aplicación de controladores biológicos antagonistas al suelo para evitar la extensión del patógeno en el suelo (Cebolla, 1994).

2.3 Controladores biológicos

El control biológico es el uso de parasitoides, depredadores, patógenos, antagonistas y poblaciones competidoras para suprimir una población de plagas, haciendo esta menos abundante y por lo tanto menos dañina que en ausencia de éstos.

El uso exitoso del control biológico requiere de un gran conocimiento de la biología tanto del patógeno como de sus antagonistas para así poder entender sus formas de desarrollo y poder realizar los controles en las épocas indicadas reduciendo los costos (Hernández, 2008).

2.3.1 Aspectos generales de *Trichoderma*

Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* se caracterizan por ser hongos saprófitos, que sobreviven en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica, los cuales son capaces de descomponerla y en determinadas condiciones pueden ser anaerobios facultativos, lo que les permite mostrar una mayor plasticidad ecológica.

Las especies de *Trichoderma* se encuentran presentes en todas las latitudes, desde las zonas polares hasta la ecuatorial. Esta distribución tan amplia y su plasticidad ecológica están estrechamente relacionadas con la alta capacidad enzimática que poseen para degradar sustratos, un metabolismo versátil y resistencia a inhibidores microbianos. No obstante, se han realizado pocos estudios acerca de la sobrevivencia, establecimiento y proliferación de este antagonista en la rizósfera de la planta (Rodríguez, 1990).

El género *Trichoderma* es un excelente modelo para ser estudiado debido a su fácil aislamiento y cultivo, rápido desarrollo en varios sustratos y por su condición de controlador biológico de una amplia gama de fitopatógenos (Fernández, 2001). *Trichoderma* se ubica taxonómicamente según (Villegas, 2005) en:

Reino: Fungi.

División: Mycota

Subdivisión: Eumycota

Clase: Hyphomycetes.

Orden: Moniliales.

Familia: Moniliaceae.

Género: *Trichoderma*.

La mayoría de las colonias de *Trichoderma* en su inicio tienen color blanco, que se tornan a verde oscuro o amarillento, con esporulación densa (Rifai, 1960). El micelio es ralo en su mayoría, y visto al microscopio es fino, los conidióforos son ramificados, parecen un árbol pequeño. Los mismos se presentan como penachos compactados que forman anillos con un sistema de ramas irregular de manera piramidal.

Estos terminan en fiálides donde se forman las esporas asexuales o conidios, de gran importancia para la identificación taxonómica a nivel de especies. Los conidios aseguran las generaciones del hongo durante gran parte del período vegetativo de las plantas (Rifai, 1960).

Son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucanos (Harman, 2003). Además de los conidióforos, estas se pueden producir sobre fiálides que emergen directamente del micelio.

La mayoría de las especies de *Trichoderma* presentan clamidosporas, las cuales pueden ser intercalares y en ocasiones terminales. Las clamidosporas toleran condiciones ambientales adversas, son estructuras de sobrevivencia y permiten que el hongo pueda perdurar a través del tiempo (Stefanova *et al*, 1999).

No obstante, las clamidosporas recién formadas presentan más de 75 % de germinación, bajo condiciones óptimas de humedad (> 75 %) y temperatura (28 – 30 °C). Debido a esto se dice, que las especies de *Trichoderma* produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios (Infante, 2009).

2.3.2 Mecanismos de acción de *Trichoderma*

En la acción biocontroladora de *Trichoderma* se han descrito diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos dianas.

Entre estos, los principales son la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis, los que tienen una acción directa frente al hongo fitopatógeno, (Leal, 2000; citado por Lorenzo, 2001). Estos mecanismos se ven favorecidos por la habilidad de los aislamientos de *Trichoderma* para colonizar la rizósfera de las plantas. Otros autores han sugerido distintos mecanismos responsables de su actividad biocontroladora, que incluyen, además de los mencionados, la secreción de enzimas y la producción de compuestos inhibidores (Haram, 1996 y Zimand *et al*, 1996).

Además se conoce que *Trichoderma* presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora es de forma indirecta. Entre estos se pueden mencionar los que elicitán o inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos como es la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (Inducción de Resistencia) (Harman, 2004), con la detoxificación de toxinas excretadas por patógenos y la desactivación de enzimas de estos durante el proceso de infección; la solubilización de elementos nutritivos, que en su forma original no son accesibles para las plantas. Tienen la capacidad además, de crear un ambiente favorable al desarrollo radical lo que aumenta la tolerancia de la planta al estrés (Harman, 2003).

2.3.2.1 Competencia

La competencia constituye un mecanismo de antagonismo muy importante. Se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (Hjeljord y Tronsmo, 1998).

La presencia de forma natural de *Trichoderma* en diferentes suelos (agrícolas, forestales, en barbechos), se considera una evidencia de la plasticidad ecológica de este hongo y de su habilidad como excelente competidor por espacio y recursos nutricionales, aunque la competencia depende de la especie, (Wardle *et al.*, 1993 citados por Samuel, 1996). *Trichoderma* está biológicamente adaptado para una colonización agresiva de los sustratos y en condiciones adversas para sobrevivir, fundamentalmente, en forma de clamidosporas.

La alta velocidad de crecimiento, abundante esporulación y la amplia gama de sustratos sobre los que puede crecer, debido a la riqueza de enzimas que posee, hacen que sea muy eficiente como saprófito y aún más como agente de control biológico (Pérez, 2004).

La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros) (Stefanova, 1999) y microelementos. Esta forma de competencia en los suelos o sustratos ricos en nutrientes no tiene importancia desde el punto de vista práctico. Por ello, cuando se emplea fertilización completa o existe exceso de algunos de los componentes de los fertilizantes e inclusive en suelos con alto contenido de materia orgánica, este tipo de antagonismo es poco eficaz.

La competencia por sustrato o espacio depende de si el mismo está libre de patógenos (sustrato estéril) o si hay una micobiota natural. En el primer caso, la velocidad de crecimiento del antagonista no determina la colonización efectiva de los nichos, sino la aplicación uniforme del mismo en todo el sustrato. Sin embargo, en el segundo caso la velocidad de crecimiento, conjuntamente con otros de los mecanismos de acción del antagonista, es determinante en el biocontrol del patógeno y colonización del sustrato.

Un ejemplo fehaciente de estas interacciones es el notificado por (Durman *et al.*, 2003), quienes encontraron una disminución del crecimiento de *R. solani* y de la viabilidad de los esclerocios por la acción de diferentes aislamientos de *Trichoderma* sp.

2.3.2.2 Micoparasitismo

El micoparasitismo es definido como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados (Ulloa, 1996).

Las especies de *Trichoderma* durante el proceso de micoparasitismo crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico (Carsolio, 1999), que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógenos.

El micoparasitismo como mecanismo de acción antagónica en *Trichoderma* sp., ha sido ampliamente estudiado, (Chet *et al.*, 1998 citados por Pérez, 2004).

No obstante, existen aspectos en el mismo que no están totalmente esclarecidos. Este es un proceso complejo que para su estudio se ha separado en cuatro etapas. El desarrollo de cada etapa depende de los hongos involucrados, de la acción biotrófica o necrotrófica del antagonista y de las condiciones ambientales. (Chet *et al.*, 1996), explican detalladamente cada una de estas etapas, para el caso de las especies de *Trichoderma*.

- **Crecimiento quimiotrófico**

El quimiotropismo positivo es el crecimiento directo hacia un estímulo químico (Chet *et al.*, 1994). En la etapa de localización del hospedante, se ha demostrado que *Trichoderma* puede detectarlo a distancia y sus hifas crecen en dirección al patógeno como respuesta a un estímulo químico.

- **Reconocimiento**

Las investigaciones realizadas a lo largo de muchos años con un número considerable de cepas de *Trichoderma* y de especies de hongos fitopatógenos han demostrado que estas son efectivas sólo contra patógenos específicos. El conocimiento de esta especificidad condujo a la idea de que el reconocimiento molecular entre *Trichoderma* y el hospedante es el evento esencial que precede al proceso antagonista (Chet *et al.*, 1996). Esto es un elemento a tener en cuenta para la aplicación práctica de este hongo, y para la búsqueda de nuevos aislamientos más adaptados y eficaces como un proceso continuo.

El reconocimiento se realiza a través de interacciones lectinas – carbohidratos. Las lectinas son proteínas enlazadas a azúcares o glicoproteínas, las cuales aglutinan células y están involucradas en las interacciones entre los componentes de la superficie de las células y su ambiente extracelular, (Barondes, 1981 citado por Chet *et al.*, 1996). La producción de lectinas se ha investigado en *R. solani* y *S. rolfsii*. En todos los casos se encontraron evidencias directas, de que las lectinas están involucradas en el micoparasitismo (Chet *et al.*, 1994 citado por Pérez, 2004).

- **Adhesión y enrollamiento**

Cuando la respuesta de reconocimiento es positiva, las hifas de *Trichoderma* se adhieren a las del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorios, se enrollan alrededor de estas, todo esto está mediado por procesos enzimáticos (Pérez, 2004). Según (Elad *et al.*, 1983 citado por Martínez, 1994), la adherencia de las hifas de *Trichoderma* ocurre gracias a la asociación de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno.

- **Actividad lítica**

En esta etapa ocurre la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista (Haram, 1996).

Por los puntos de contacto donde se produce la lisis y aparecen los orificios, penetra la hifa del micoparásito en las del hongo hospedante. La actividad enzimática en *Trichoderma* ha sido estudiada extensamente, así como las posibles funciones que desenvuelven en el micoparasitismo.

Las especies de *Trichoderma* tienen un elevado potencial parasítico, con una actividad metabólica muy particular, que les permite parasitar eficientemente las estructuras fúngicas de los hongos (Sandoval y López, 2002).

Trichoderma excreta muchos metabolitos dentro de ellos enzimas (celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas) que participan en la lisis de la pared celular de las hifas del hospedante, facilitando la inserción de estructuras especializadas y de hifas de *Trichoderma*, que absorben nutrientes del interior del hongo fitopatógeno y finalmente termina con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula del hospedante (Misaghi, 1984 y Adams, 1990 citados por Infante, 2009).

El citoplasma restante está principalmente rodeando las hifas invasoras, mostrando síntomas de disgregación, lo que disminuye la actividad patogénica del mismo.

Desde el punto de vista práctico las enzimas se tienen en cuenta como criterio en la selección de aislamientos. (Elad *et al.*, 1983), encontraron que los aislamientos de *Trichoderma* eficaces en el control de patógenos vegetales eran capaces de producir glucanasas, quitinasas y proteasas, por lo que recomienda que los aislamientos de *Trichoderma* sp., pueden ser seleccionados como agentes de control biológico en base a su capacidad de producir β -1,3-D glucanasa y quitinasa en presencia de glucano y quitina, respectivamente.

Por los resultados que se han obtenido hasta el momento, se ha llegado a la conclusión que la producción del factor inhibidor en *Trichoderma* depende más del aislamiento que de la propia especie. Aspecto este, que reafirma una vez más la búsqueda constante de nuevos aislamientos de este antagonista (Infante, 2009).

(Liu y Baker, 1980 citados por Infante, 2009), plantearon que el micoparasitismo de *Trichoderma* sobre *R. solani* es el responsable de la disminución de la densidad de inóculo de este patógeno y que se corresponde con un incremento en la densidad de población de *Trichoderma* sp.

Diferentes autores han informado para *Trichoderma* diferentes tipos de interacción hifal como parasitismo, considerándolos una potencialidad para su uso como biorreguladores de hongos del suelo, (Correa, 1997 y Bernal *et al.*, 2004) encontraron enrollamiento y penetración de hifas de *Trichoderma* en hifas de *F. oxysporum* f. sp. *Cubense*. (Harman, 2001), encontró penetración en hifas de *Pythium* sp. y *R. solani*. (Rivero *et al.*, 2008), evaluaron cuatro aislamientos de *Trichoderma* sobre *Alternaria padwickii*, *Bipolaris oryzae*.

2.3.2.3 Antibiosis

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos. 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, 1999).

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” (Hjeljord, 1998).

Al inicio se estimó que la actividad inhibidora de aislamientos de *Trichoderma* sobre otros hongos se debía solo a compuestos no volátiles. (Dennis y Webster, 1971), fueron los pioneros en esta temática, con la realización de los trabajos más completos acerca de la función de los antibióticos producidos por hongos del género *Trichoderma* sobre patógenos de las plantas. Ellos relacionaron la actividad antibiótica de *Trichoderma* sp., con compuestos no volátiles, entre los que se encontraban uno identificado como Trichodermina y otros metabolitos peptídicos. En investigaciones posteriores (Webster y Lomas, 1964 citados por Infante, 2009), determinaron que *Trichoderma* sp., produce dos antibióticos más: gliotoxina y viridina.

Más tarde Oliver y Germain citado por Martínez, (1998), informaron que *T. harzianum* produce numerosos antibióticos como son: trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina.

Posteriormente Dennis *et al*, (1971), detectaron que la actividad antibiótica de algunos aislamientos se debía también a la producción de compuestos volátiles, y notaron que los aislamientos más activos poseían un fuerte olor a coco, posiblemente relacionado con la actividad antagonista. Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático, debilitando al patógeno y lo hacen más sensible a los antibióticos no volátiles, lo que se conoce como un “hiperparasitismo” de origen enzimático (Martinez, 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 *R. solani* en medios de cultivo envenenado con filtrados líquidos donde se habían cultivado las cepas antagonicas.

Algunas de las enzimas no solo intervienen en el proceso de penetración y lisis, sino que actúan también como antibióticos, tal es el caso de la enzima endoquitinasa que causa hidrólisis en las paredes de *B. cinerea*, y además inhibe la germinación de conidios y el crecimiento de tubos germinativos de varios hongos (Carsolio, 1999).

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*; mientras que otro grupo de cepas “P”, que excretaron gliovirina mostraron resultados opuestos.

No obstante, la máxima eficacia pudiera lograrse con el sistema enzimático completo (Lorito *et al.*, 1990), inclusive la selección tiene que ser más integral, donde intervengan diferentes modos de acción. Por ejemplo (Martínez *et al.*, 2008), observaron al evaluar 59 aislamientos de *Trichoderma*, 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).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente ensayo se realizó en el laboratorio e invernadero del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), ubicado Km 30.5 vía perimetral, Campus Gustavo Galindo, en condiciones de 25 – 32 °C de temperatura y de 80 – 90 % de Humedad Relativa.

El sitio posee las siguientes coordenadas geográficas: S 02° 09' 04.7'' y W 79° 57' 14.5''

3.2. Duración

Este ensayo se inició el 9 de enero de 2012 y se finalizó el 30 de abril del 2012, con una carga horaria de 40 horas semanales.

3.3. Materiales de Laboratorio

- Cajas Petri.
- Hojas de Bisturí.
- Cámara de Flujo vertical.
- Estereoscopio.
- Microscopio.
- Autoclave.
- Balanza de precisión.
- Agujas.
- Mechero.
- Medio de cultivo PDA.
- Tubos de 50 ml autoclavables.
- Tubos de 15 ml autoclavables.
- Agua destilada estéril.
- Alcohol 70 %.

- Gradilla.
- Micropipetas.
- Puntas autoclavables.

3.4. Materiales para Invernadero

- Fundas negras de polietileno de 9 x 15 cm.
- Sustrato estéril.
- Autoclave.
- Carretilla.
- Lampa.
- Regla.
- Jeringas.
- Agua.

3.5. Materiales biológicos

- Cepa de *Trichoderma harzianum*.
- Cepa de *Trichoderma viride*.
- Cepa de *Trichoderma* sp.
- Cepa de *Fusarium oxysporum*

3.6. Fase de laboratorio

3.6.1 Tratamientos estudiados

Los tratamientos utilizados son dos cepas de *Trichoderma* aisladas de la provincia de El Guayas e identificadas morfológicamente y molecularmente en los laboratorios del CIBE, también se utilizó una cepa de *Trichoderma* sp. y una de *F. oxysporum* que fueron aisladas de la provincia de Los Ríos e identificadas morfológicamente. Los tratamientos que se utilizaron se los describe a continuación:

T1: *T. harzianum* vs *F. oxysporum*

T2: *T. viride* vs *F. oxysporum*

T3: *Trichoderma* sp vs *F. oxysporum*

T4 control: *F. oxysporum*.

3.6.2 Diseño Experimental

Para la evaluación de datos se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 3 tratamientos y 20 unidades experimentales por cada uno.

3.6.3 Análisis de varianza

A continuación se detalla el esquema del análisis de varianza (ANDEVA) que se utilizó (Cuadro 1):

Cuadro 1.- ANDEVA de las pruebas in vitro

Fuente de Variación	Grados de Libertad
Tratamientos (t – 1)	2
Error Experimental	57
Total	59

3.6.4 Análisis funcional

Para la comparación de las medias de los tratamientos se utilizó la prueba de Rango Múltiples de Duncan al 5 % de probabilidad.

3.6.5 Estudio del efecto de *Trichoderma* sobre *F. oxysporum*

Las condiciones de los hongos previas a la confrontación fueron: *T. harzianum*, *T. viride* y *Trichoderma* sp. en medio de cultivo PDA incubadas a 25 °C durante 7 días y *F. oxysporum* en medio PDA incubado a 25 °C durante 10 días.

La metodología empleada fue descrita por Reyes *et al.*, (2008) y explica que en cajas Petri de 9 cm se coloca un disco de 5 mm del antagonista en un extremo y otro del patógeno en el otro extremo de la caja.

Para la recolección de datos correspondientes al crecimiento micelial se utilizaron 3 tratamiento con 20 unidades experimentales por cada uno y un testigo que es el crecimiento de en solitario de *F. oxysporum*. Por cada caja Petri se tomaron 10 puntos de referencia, los cuales fueron medidos cada 24 horas hasta que los micelios de los dos hongos se crucen y así encontrar el porcentaje de inhibición del crecimiento radial, se dejaron en incubación todos los tratamientos durante 10 días para así medir la capacidad antagonista (Figura 1, 2 y 3).

3.6.6 Variables evaluadas.

Para esta prueba se realizaron evaluaciones cada 24 horas de la manera descrita en el punto anterior.

3.6.6.1 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial

Con los datos obtenidos de cada una de las unidades experimentales se obtuvo el promedio de crecimiento radial del patógeno y del testigo en la misma cantidad de días de incubación, con esos datos mediante la fórmula descrita a continuación se obtuvo el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (Elías y Arcos, 1984 citada por Ezziyyani *et al.* 2004):

$$PICR = \left(\frac{R_1 - R_2}{R_1} \right) \times 100$$

Dónde: R1: corresponde al radio mayor (radio patógeno testigo).

R2: es el radio menor (radio del patógeno en enfrentamiento).

3.6.6.2 Capacidad antagonista

La capacidad antagonista se la evaluó dándole valores al cultivo dual basándose en la tabla creada por (Elías y Arcos 1984 citada por Ezziyyani *et al.* 2004) (Cuadro 2) para el grado de micoparasitismo (Fernández, 2009) (Figura 1, 2 y 3).

Cuadro 2.- Escala creada por Elías y Arcos (1984) citada por Ezziyyani *et al.* (2004) para la evaluación de la capacidad antagónica (micoparasitismo), de acuerdo a la medida de la invasión de la superficie, colonización y esporulación.

Grado	Capacidad antagónica
0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo patógeno
1	Invasión de 1/4 de la superficie de la colonia del hongo patógeno
2	Invasión de 1/2 de la superficie de la colonia del hongo patógeno
3	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno
4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno con esporulación sobre el

Fuente: Fernández y Suárez, 2009

3.7. Fase de invernadero

Utilizando la metodología planteada por González *et al.* (2005), las actividades que se realizaron para este ensayo en invernadero fueron las siguientes.

3.7.1 Tratamientos estudiados.

Para los tratamientos se utilizó cepas de *T. harzianum*, *T. viride*, *Trichoderma* sp. y *F. oxysporum* descritas a continuación:

Grupo 1.

Cepa de *T. harzianum*.

T1: *F. oxysporum* 1×10^6 UFC/ml + *T. harzianum* 4×10^6 UFC/ml.

T2: *F. oxysporum* 1×10^6 UFC/ml + *T. harzianum* $6,67 \times 10^6$ UFC/ml.

T3: *F. oxysporum* 1×10^6 UFC/ml + *T. harzianum* 1×10^9 UFC/ml.

Grupo 2

Cepa de *T. viride*.

T4: *F. oxysporum* 1×10^6 UFC/ml + *T. viride* 4×10^6 UFC/ml.

T5: *F. oxysporum* 1×10^6 UFC/ml + *T. viride* $6,67 \times 10^6$ UFC/ml.

T6: *F. oxysporum* 1×10^6 UFC/ml + *T. viride* 1×10^9 UFC/ml.

Grupo 3

Cepa de *Trichoderma* sp.

T7: *F. oxysporum* 1×10^6 UFC/ml + *Trichoderma* sp. 4×10^6 UFC/ml.

T8: *F. oxysporum* 1×10^6 UFC/ml + *Trichoderma* sp. $6,67 \times 10^6$ UFC/ml.

T9: *F. oxysporum* 1×10^6 UFC/ml + *Trichoderma* sp. 1×10^9 UFC/ml.

Grupo 4

Testigos

T10 testigo 1 (control del patógeno): *F. oxysporum* 1×10^6 UFC/ml.

T11 Testigo absoluto: Sin inoculación.

3.7.2 Diseño experimental

Para la recolección de datos se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) en arreglo grupal, con 11 tratamientos con 8 repeticiones y 3 observaciones.

3.7.3 Análisis de varianza

A continuación se detalla el esquema del análisis de varianza (ANDEVA) que se utilizó (Cuadro 3):

Cuadro 3.- ANDEVA de las pruebas en Invernadero.

Fuente de Variación	Grados de Libertad
Tratamientos	10
G1	2
G2	2
G3	2
G4	1
Grupos	3
Error experimental	77
Total	87

3.7.4 Análisis funcional

Para la comparación de las medias de los tratamientos se utilizó la prueba de Rango Múltiples de Duncan al 5 % de probabilidad.

3.7.5 Siembra de semillas en bandejas de germinación

El sustrato que se utilizó para la germinación de las semillas es una mezcla BM2 y para su esterilización se colocó esta mezcla en fundas autoclavable y se esterilizó durante 30 minutos a una temperatura de 121 °C.

Las bandejas de germinación se llenaron con el sustrato estéril y en cada uno de los pocillos se colocó una semilla y se regaron una vez al día en horas de poca luminosidad (Figura 4).

3.7.6 Obtención de suspensiones de esporas de *F. oxysporum* y *Trichoderma*.

Para la obtención de la solución a base de esporas de *F. oxysporum* se utilizó la cepa descrita en el punto 3.5.

La preparación se inició cultivando la cepa del patógeno en 30 cajas Petri con medio de cultivo PDA durante diez días a una temperatura de 25 a 27 °C; posteriormente se le agregó 5 ml de agua destilada estéril a cada caja y se raspo toda la cantidad de micelio, se evaluó la concentración de esporas mediante el conteo en la cámara de Neubauer y mediante dilución se ajustó a una concentración de 1×10^6 UFC/ml (Figura 5 y 6).

Para la obtención de las suspensiones de esporas de *Trichoderma* las cepas que se utilizaron fueron las tres descritas en el punto 3.5.

De cada una de las tres cepas de *Trichoderma* se cultivaron 30 cajas Petri con medio de cultivo PDA y se incubaron durante 7 días a una temperatura de 25 a 27 °C, posteriormente se les agregó 5 ml de agua destilada estéril a cada una de las cajas, se evaluó la concentración de esporas mediante el conteo en la cámara de Neubauer y mediante diluciones se ajustó a las concentraciones deseadas para cada una de las cepas.

3.7.7 Preparación de sustrato a utilizarse en llenado de fundas

La preparación del sustrato a usarse en el llenado de las fundas fue una combinación de dos partes de tierra franca arcillosa, una parte de sustrato de germinación de nombre comercial BM2 y una parte de zeolita, se mezcló hasta homogeneizarlo completamente, luego se colocó esta mezcla en fundas de almohada y se esterilizó durante 30 minutos a 121 °C (Figura 7).

Con el sustrato estéril obtenido se llenaron con 1 kg aproximadamente 264 fundas de polietileno negras de 15 x 20 cm y se las agrupó de la forma en que se detalla en el cuadro de invernadero (Figura 8).

3.7.8 Inoculación de sustrato las suspensiones de esporas.

Para la inoculación del sustrato, diez días antes del trasplante de las plántulas se regaron todas las fundas y con una pipeta se colocó 1,5 ml de suspensión de esporas de *F. oxysporum* con una concentración de 1×10^6 (Cuadro 4) en cada una de las fundas y se regó diariamente para favorecer el crecimiento del hongo (Figura 9).

Cuadro 4.- Concentración y distribución de aplicación de *F. oxysporum* sobre el sustrato a utilizarse en el crecimiento de plántulas de maracuyá en condiciones de invernadero.

Tratamientos	Concentración
1	1.00 x 10 ⁶ UFC/ml
2	1.00 x 10 ⁶ UFC/ml
3	1.00 x 10 ⁶ UFC/ml
4	1.00 x 10 ⁶ UFC/ml
5	1.00 x 10 ⁶ UFC/ml
6	1.00 x 10 ⁶ UFC/ml
7	1.00 x 10 ⁶ UFC/ml
8	1.00 x 10 ⁶ UFC/ml
9	1.00 x 10 ⁶ UFC/ml
10 (Testigo 1)	1.00 x 10 ⁶ UFC/ml
11 (Testigo 2)	Sin inoculación

Para realizar la inoculación de las 3 cepas de *Trichoderma*, 7 días después de la inoculación de *F. oxysporum*, con el mismo procedimiento descrito anteriormente se inocularon las fundas con 1,5 ml de suspensión de acuerdo a cada uno de los tratamientos tal como se describe en el (Cuadro 5).

Cuadro 5.- Concentración y distribución de aplicación de las 3 cepas de *Trichoderma*.

Tratamientos	Dosis	Cepa
1	4.00x10 ⁶	<i>T. harzianum</i>
2	6.67x10 ⁶	<i>T. harzianum</i>
3	1.00x10 ⁹	<i>T. harzianum</i>
4	4.00x10 ⁶	<i>T. viride</i>
5	6.67x10 ⁶	<i>T. viride</i>
6	1.00x10 ⁹	<i>T. viride</i>
7	4.00x10 ⁶	<i>Trichoderma</i> sp.
8	6.67x10 ⁶	<i>Trichoderma</i> sp.
9	1.00x10 ⁹	<i>Trichoderma</i> sp.
10 (Testigo 1)	-	Sin inoculación
11 (Testigo 2)	-	Sin inoculación

3.7.9 Transplante de plántulas a fundas.

El transplante se lo realizó 3 días después de la inoculación de las cepas de *Trichoderma* y desde ese día se regó todas plantas una vez al día durante la duración del ensayo (Figura 10 y 11).

3.8. Variables evaluadas en invernadero

Se realizaron evaluaciones cada 7 días midiendo las siguientes variables y se utilizaron las cepas descritas en el punto 3.5.

3.8.1 Número de plantas muertas por semana.

Esta evaluación se la realizó una vez por semana observando las plantas de todos los tratamientos y registrando el número de plantas muertas.

3.8.2 Severidad de la infección por planta.

El efecto de los tratamientos se midió por el porcentaje de daño a la planta, utilizando la tabla arbitraria descrita en el Cuadro 6.

Cuadro 6.- Escala arbitraria para evaluación de daños

Daño en la planta (%)	Valor asignado
0	0
25	1
50	2
75	3
100	4

Elaborado por el autor

3.8.3 Altura de plantas

Con una regla milimétrica se midió cada una de las plantas desde la base del tallo hasta el ápice.

3.8.4 Volumen de la raíz.

Esta evaluación se realizó luego de culminar con las evaluaciones de altura, severidad y plantas muertas y se obtuvo el volumen utilizando la técnica de desplazamiento de fluidos (Montoro, 2011) donde se tomó todo el sistema radicular y se lo colocó en una probeta de 1 000 ml que contenía 500 ml de agua y el aumento del volumen de agua mostrado en la probeta será determinado como de las raíces.

3.8.5 Peso de la raíz.

Al finalizar el ensayo, se cortó toda la raíz de cada una de las plantas y en una balanza digital se pesó cada una de estas raíces.

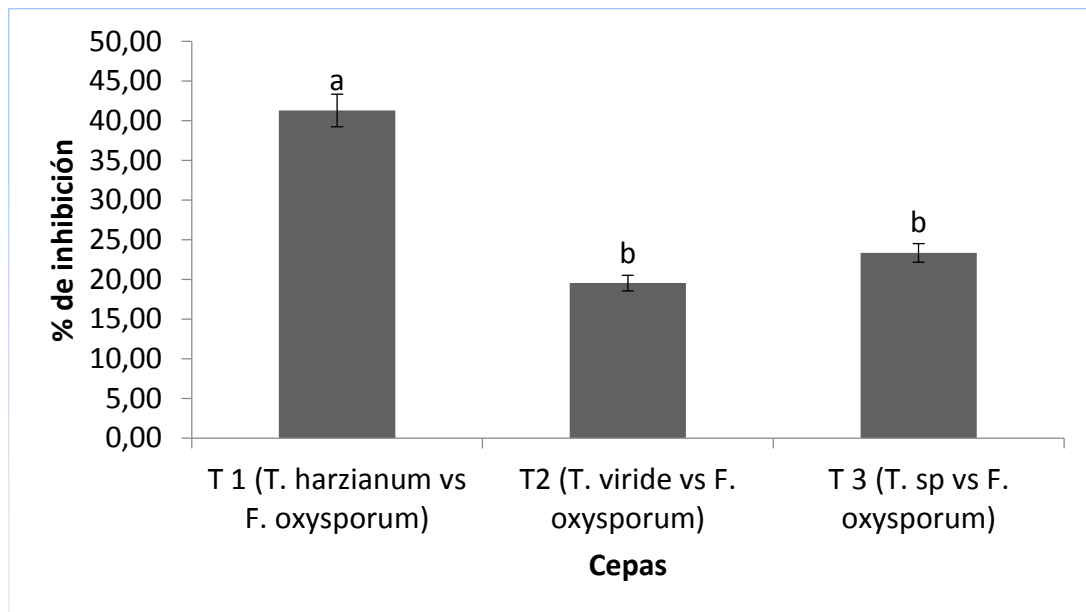
4. RESULTADOS

4.1 Fase de laboratorio

4.1.1 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial.

En el **Cuadro 7** se observan los valores correspondientes a esta variable, en la que se expresaron diferencias estadísticas altamente significativas. El tratamiento 1 presenta el valor más alto de inhibición con 42 % frente a 19 % del tratamientos 2.

Gráfico 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *F. oxysporum* frente a tres cepas de *Trichoderma* al tercer día en condiciones controladas de laboratorio.¹



Elaborado por el autor

¹ Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5 %.

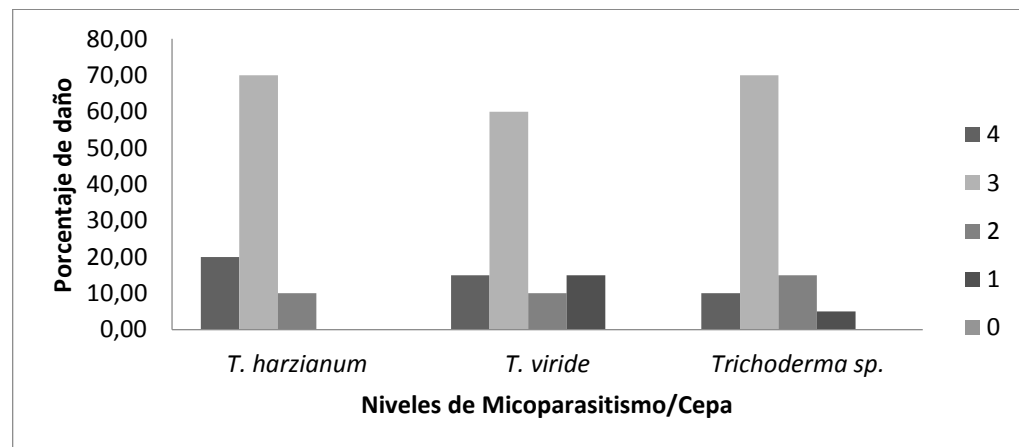
Cuadro 7.- Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de la colonia del hongo *Fusarium oxysporum* en caja de Petri en el laboratorio. UCSG, 2012.¹

Tratamientos	%
T1. <i>T. harzianum</i> vs <i>F. oxysporum</i>	41.31 a
T2. <i>T. viride</i> vs <i>F. oxysporum</i>	19.55 b
T3. <i>Trichoderma sp.</i> vs <i>F. oxysporum</i>	23.36 b
CV : 14.01 %	

4.1.2 Capacidad antagonista (micoparasitismo).

En el Cuadro 8 se observa el porcentaje de las repeticiones para cada nivel de micoparasitismo y se las agrupo por cada una de las cepas de *Trichoderma*.

Gráfico 2. Porcentaje de unidades experimentales para cada uno de los niveles de micoparasitismo en condiciones controladas de laboratorio.



Elaborado por el autor

¹ Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5 %.

Cuadro 8. Porcentaje de capacidad antagonista descrito por el número de cajas para cada nivel. UCSG, 2012.

Cepas	Porcentaje de micoparasitismo				
	4	3	2	1	0
<i>T. harzianum</i>	20.00	70.00	10.00	0.00	0.00
<i>T. viride</i>	15.00	60.00	10.00	15.00	0.00
<i>Trichoderma</i> sp.	10.00	70.00	15.00	5.00	0.00

Escala descrita de Elias y Arcos (1984), calificada de 0 a 4.

4.2 Fase de invernadero

4.2.1 Número de plantas muertas por semana.

No se registraron plantas muertas para esta variable por consiguiente no se realizó análisis de varianza (Figura 12).

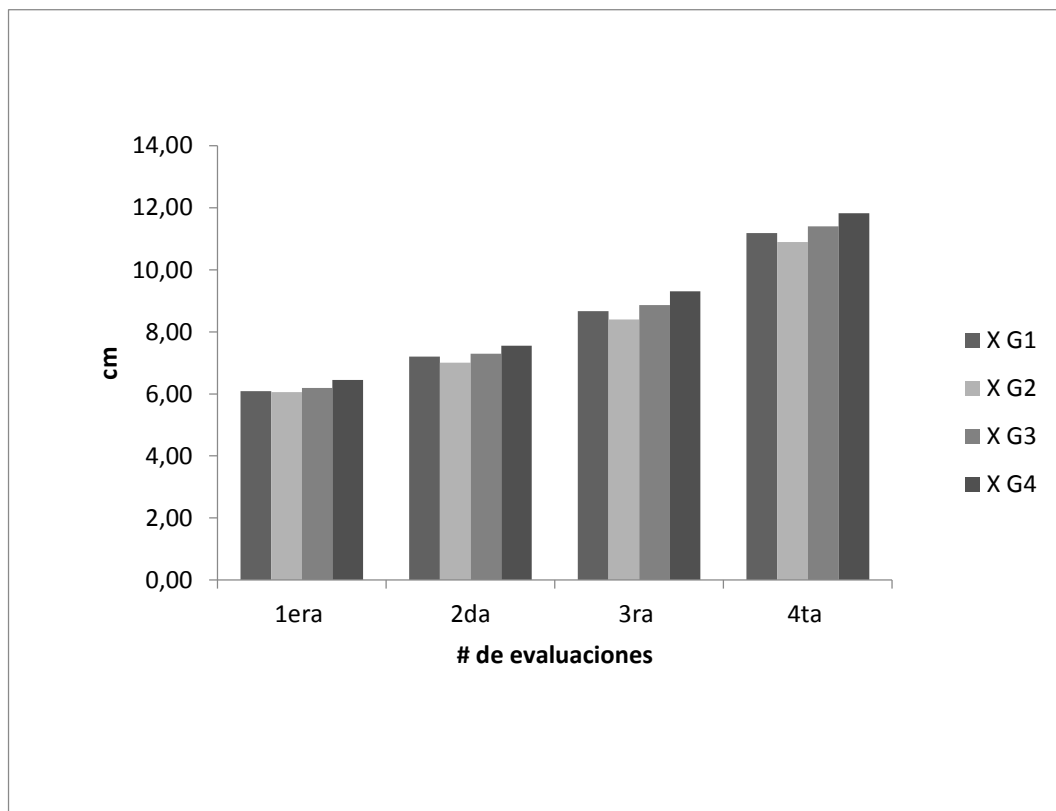
4.2.2 Severidad de la infección por planta

Para la medición de esta variable se dieron valores del 0 al 4 a cada una de las observaciones, correspondientes a la escala arbitraria (Cuadro 5), y los valores finales obtenidos de los promedios no ameritaron la realización de un análisis de varianza y por consiguiente tampoco pruebas de significancia.

4.2.3 Altura de plantas

En el Cuadro 9 se observan los promedios correspondientes a esta variable, donde solo existió diferencias significativas dentro del grupo 4 que son los controles (Figura 13).

Grafico 3. Promedio de altura de plántulas de maracuyá agrupadas por cada una de las cepas de *Trichoderma* en cada semana de evaluación, en condiciones controladas de invernadero.



Elaborado por el autor

Cuadro 9.- Promedios de crecimiento de plantas por semana para cada uno de los tratamientos en el invernadero. UCSG, 2012.¹

Tratamientos	Altura de planta (cm)/Evaluación			
	1 ^{era}	2 ^{da}	3 ^{ra}	4 ^{ta}
Grupo 1 (Th vs Fo)				
T1 (C1)	6.23 ^{NS}	7.40 ^{NS}	9.04 ^{NS}	11.65 ^{NS}
T2 (C2)	5.88	7.10	8.38	10.77
T3 (C3)	6.17	7.10	8.58	11.13
Grupo 2 (Tv vs Fo)				
T4 (C1)	6.19 ^{NS}	7.10 ^{NS}	8.67 ^{NS}	11.23 ^{NS}
T5 (C2)	6.19	7.15	8.63	11.29
T6 (C3)	5.79	6.79	7.92	10.19
Grupo 3 (T. sp. vs Fo)				
T7 (C1)	6.35 ^{NS}	7.44 ^{NS}	9.15 ^{NS}	11.71 ^{NS}
T8 (C2)	5.88	6.96	8.40	10.88
T9 (C3)	6.36	7.50	9.04	11.60
Grupo 4 (controles)				
T10 (Testigo con Fo)	6.65 ^{NS}	7.92*	9.58 ^{NS}	11.88 ^{NS}
Entre Grupos				
\bar{X} G1	6.09^{NS}	7.20^{NS}	8.67^{NS}	11.18^{NS}
\bar{X} G2	6.06	7.01	8.40	10.90
\bar{X} G3	6.19	7.30	8.86	11.40
\bar{X} G4	6.45	7.55	9.31	11.82
CV (%)	9.67	10.04	11.16	11.83

*C1: 4.00 x 10⁶ UFC/Especie de *Trichoderma*

*C2: 6.67 x 10⁶ UFC/Especie de *Trichoderma*

*C3: 1 x 10⁹ UFC/Especie de *Trichoderma*

¹ Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5 %.

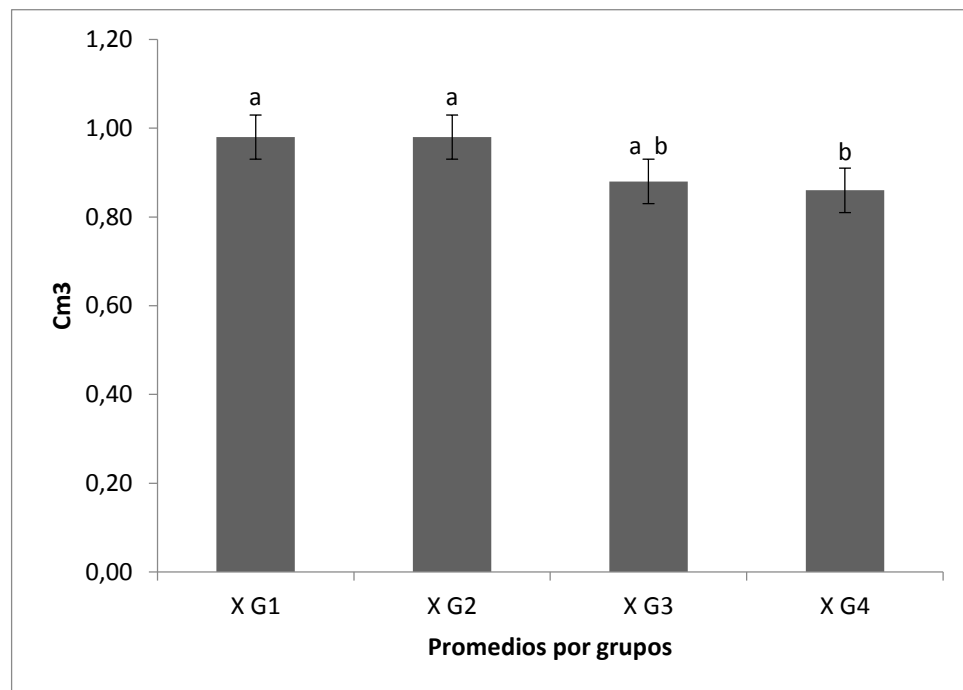
** Diferencias altamente significativas.

^{NS} No significativo

4.2.4 Volumen de la raíz

Los valores observados dentro del Cuadro 10 corresponden a esta variable e indican que existieron diferencias altamente significativas dentro del grupo 4 y entre los grupos

Gráfico 4. Promedio del volumen de las raíces de plántulas de maracuyá agrupadas por cada una de las cepas de *Trichoderma* en condiciones controladas de invernadero.¹



Elaborado por el autor

¹ Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5 %.

** Diferencias altamente significativas.

^{NS} No significativo

Cuadro 10.- Promedios de volumen de raíces de plántulas de maracuyá. UCSG, 2012.¹

Tratamientos	Volumen de las raíces cm ³ /planta (dos meses)
Grupo 1 (Th vs Fo)	
T1 (C1)	0.96 ^{NS}
T2 (C2)	1.00
T3 (C3)	0.98
Grupo 2 (Tv vs Fo)	
T4 (C1)	0.98 ^{NS}
T5 (C2)	1.00
T6 (C3)	0.96
Grupo 3 (T. sp vs Fo)	
T7 (C1)	0.90 ^{NS}
T8 (C2)	0.88
T9 (C3)	0.88
Grupo 4 (controles)	
T10 (Testigo con Fo)	0.73 ^{**}
Entre Grupos	
\bar{X} G1	0.98 a
\bar{X} G2	0.98 a
\bar{X} G3	0.88 a b
\bar{X} G4	0.86 b

CV (%): 9.06

*C1: 4.00 x 10⁶ UFC/Especie de *Trichoderma*

*C2: 6.67 x 10⁶ UFC/Especie de *Trichoderma*

*C3: 1 x 10⁹ UFC/Especie de *Trichoderma*

¹ Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5 %.

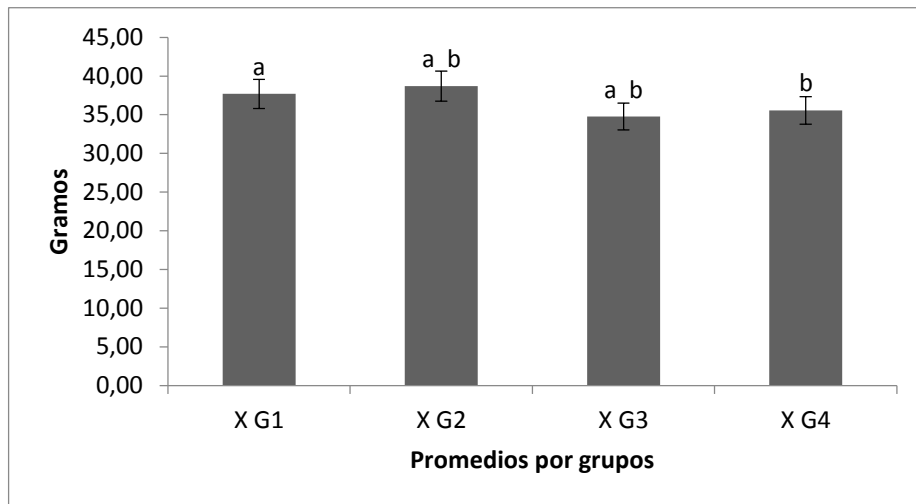
** Diferencias altamente significativas.

^{NS} No significativo

4.2.5 Peso de la raíz

En la Cuadro 11 correspondiente a esta variable se encontró diferencias estadísticas altamente significativas dentro del grupo 4 y entre los grupos (Figura 14).

Gráfico 5. Promedio del peso de las raíces de plántulas de maracuyá agrupadas por cada una de las cepas de *Trichoderma*, en condiciones controladas de invernadero. ¹



Elaborado por el autor.

¹ Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5 %.

Cuadro 11.- Promedios de peso de raíces de plántulas de maracuyá al finalizar el ensayo.

UCSG, 2012¹

Tratamientos	Peso de las raíces (g)/planta (dos meses)
Grupo 1 (Th vs Fo)	
T1 (C1)	38.08 ^{NS}
T2 (C2)	36.63
T3 (C3)	38.38
Grupo 2 (Tv vs Fo)	
T4 (C1)	38.38 ^{NS}
T5 (C2)	40.08
T6 (C3)	37.63
Grupo 3 (Tsp vs Fo)	
T7 (C1)	35.29 ^{NS}
T8 (C2)	34.46
T9 (C3)	34.50
Grupo 4 (controles)	
T10 (Testigo con Fo)	30.54 ^{**}
Entre Grupos	
\bar{X} G1	37.69 a
\bar{X} G2	38.69 a b
\bar{X} G3	34.75 a b
\bar{X} G4	35.54 b

CV (%): 9.20

*C1: 4.00 x 10⁶ UFC/Especie de *Trichoderma*

*C2: 6.67 x 10⁶ UFC/Especie de *Trichoderma*

*C3: 1 x 10⁹ UFC/Especie de *Trichoderma*

¹ Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5 %.

** Diferencias altamente significativas.

^{NS} No significativo

5. DISCUSIÓN

Todos los tratamientos promocionaron inhibición en el crecimiento radial sobre *F. oxysporum* en el tercer día de evaluación cuando los micelios se encontraron, según lo expuesto en el Cuadro 7, la cepa de *T. harzianum* con 41.31 % fue la que mejor se desarrolló en este ensayo obteniendo 10 % más de inhibición con relación a *T. viride* y *Trichoderma* sp.. Según Fernández y Suarez (2009), utilizando otra cepa de *T. harzianum* en ensayos obtuvieron promedios de 50 % de inhibición contra *F. oxysporum*, en comparación con una cepa diferente de *Trichoderma* sp. contra *F. oxysporum* que inhibió para el tercer día un 35 %, valor que se acerca mucho a lo obtenido por Folgueras *et al.*, 2007. Estos resultados confirmaron el antagonismo de *Trichoderma* sobre *F. oxysporum*.

Como se mencionó anteriormente, todos los tratamientos proporcionaron inhibición, pero no todos presentaron la misma capacidad antagonista (micoparasitismo), todas las cepas utilizadas presentaron esporulación sobre el micelio del patógeno, pero *T. harzianum* presentó en más repeticiones este nivel de antagonismo, contrario a lo descrito por Fernández y Suarez (2009) quienes no encontraron micoparasitismo con ninguna de las cepas de *Trichoderma* utilizadas contra *F. oxysporum*.

En esta investigación no hubo mortalidad en ninguno de los tratamientos evaluados incluyendo al testigo inoculado solo con *F. oxysporum* (testigo 1), contrario a lo observado por González *et al.*, (2009) quienes en plántulas de papaya con la cepa de *F. oxysporum* en condiciones controladas de invernadero y con métodos de inoculación muy similares, verificaron mortalidad completa para el testigo 1 y si existió control para las tratadas con *Trichoderma*. Una de las razones posibles por las que no se dieron las muertes de las plantas podría haber sido la no presencia de condiciones ambientales propicias para la enfermedad y la falta de interacción con otros agentes fitopatógenos, situación que si ocurre en campo.

Para el análisis de severidad se elaboró una tabla arbitraria de valores, en la que se observó que para ninguno de los tratamientos en ninguna de las concentraciones descritas de *Trichoderma* mayores a 10^6 UFC/ml se observó daños significativos (menos del 1 % de las

plantas presentaron daños en cualquier etapa); esto difiere mucho en lo que dice González *et al.*, (2009) que si existe control del patógeno con concentraciones de *Trichoderma* 10^6 UFC/ml pero en concentraciones menores a eso todas las plantas presentan daños y retraso en el crecimiento. Se podría deducir que, la razón por la cual ninguno de los tratamientos presentó problemas de daños en follaje o tallo se debe a que las concentraciones en todos los tratamientos fueron mayores a 10^6 UFC/ml, y que la falta de síntomas en el testigo 1 se debería a que *F. oxysporum* no actúa causando daños visibles en esa etapa fenológica (crecimiento inicial) de la planta, o como ya se indicó, las condiciones ambientales no fueron favorables para el patógeno.

Los resultados de altura de planta en un periodo de 7 días, no mostraron diferencias estadísticas significativas en ninguno de los tratamientos, contrario a lo que dice Cubillos *et al.*, (2011) quienes al utilizar el patógeno *Fusarium solani* y como antagonista *Trichoderma* observaron diferencias en el crecimiento de las plantas comparadas con el testigo. Esto podría indicar que la cepa de *F. oxysporum* utilizada en esta ensayo no fue lo suficientemente patogénico como para reducir el crecimiento de la planta de forma significativa o la forma de inoculación utilizada no permitió un desarrollo normal del patógeno.

Los resultados obtenidos en el volumen de raíz determinaron diferencias estadísticas entre los tratamientos testigos con y sin inoculación del patógeno, esto quiere decir que el hongo ocasionó un daño medible en la cantidad de raíces de las plantas en el control positivo con *F. oxysporum* en comparación con el que no tuvo inoculación de ningún tipo, de la misma forma lo reporta Cubillos *et al.*, (2011) quienes observaron que con la presencia del patógeno *F. solani* en plántulas de maracuyá se dio pudrición parcial en todos los tratamientos inoculados *Trichoderma* junto a *Fusarium*.

En peso de raíces, los resultados muestran diferencias estadísticas dentro del grupo 4 que son los tratamientos con y sin inoculación de *F. oxysporum*, esto está relacionado directamente con lo expresado en la variable volumen de las raíces en las que se presentó una disminución de volumen de las mismas, y por consiguiente existirá una reducción considerable en el peso.

Se podría decir con certeza que el daño producido por la acción de *F. oxysporum* se redujo por la acción de las distintas cepas de *Trichoderma* en todas las concentraciones utilizadas, del mismo modo como lo indican Cubillos *et al.*, (2011) en la confrontación de *T. harzianum* contra *F. solani* en plantas de maracuyá y González *et al.*, (2009) en la utilización de *Trichoderma* sp. para el control de *F. oxysporum* en plantas de papaya.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en los ensayos, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- Las tres cepas nativas de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. viride* y *Trichoderma sp.*), ejercieron un apreciable control sobre el crecimiento radial de la colonia de *F. oxysporum in vitro*.
- *T. harzianum* ejerció el mayor control del crecimiento radial de *F. oxysporum in vitro*.
- Se confirmó el crecimiento de *F. oxysporum* en las raíces del testigo inoculado después de aislarlo en medio de cultivo PDA.
- Las tres cepas de *Trichoderma* en las tres concentraciones probadas, ejercieron un control significativo sobre el daño causado por *F. oxysporum* a nivel de las raíces de las plantas de maracuyá en condiciones de invernadero.

Recomendaciones

De acuerdo a lo mencionado anteriormente se puede recomendar lo siguiente:

- Realizar otros trabajos utilizando una mezcla de posibles patógenos del suelo incluyendo a *F. oxysporum* causantes de la pudrición del cuello del tallo en el cultivo de maracuyá para obtener resultados más contundentes.
- Realizar otros trabajos similares en condiciones de campo para obtener resultados que ayuden a reducir los costos de producción del cultivo de maracuyá.

- Realizar pruebas moleculares de varias cepas del patógeno para así conocer la acción específica de cada una de ellas para futuros estudios.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. 2005.** Fitopatología. Department of Plant Pathology. University of Florida. 5ta Ed. Estados Unidos. 838 Pág.
- Ahmad, J; Baker, R. 1987.** Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*. Revista Phytopathology. 77^a Ed. Estados Unidos. Pág. 182 – 189. Disponible en: http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1987Articles/Phyto77n02_182.PDF.
- ALEXOPOULOS, C; MIMS, C. 1985.** Introducción a la micología. 24^a Ed. Barcelona, España. 630 Pag.
- Beraldo, J; Myiake, E. 2010.** Morfoanatomia de folhas e caules de *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. Revista Brasileira farmacogn. 20^a Ed. Curitiba, Brasil. Pág. 233 – 239.
- Bernacci, L; Soares – Scott, M; Vilela, N; Da Silva, I; Molina, L. 2008.** *Passiflora edulis* Sims: The Correct Taxonomic Way to Cite the Yellow Passion Fruit (and of others colors). Revista Brasileira Fruticultura Jaboticabal – SP. 30^a Ed. Brasil. Pag. 566 – 576
- Bernal, A; Andreu, C; Moya, M. 2010.** Utilización de *Trichoderma* sp. como alternativa ecológica para el control de *Fusarium oxysporum* sp. *Cubense* (EF Smith) Snyder & Hans. Décimo Congreso Internacional de Educación Superior. Colombia. Disponible en: <http://revistas.mes.edu.cu/greenstone/collect/repo/import/repo/20100311/978959161164201064.pdf>
- Cadena Frutícola del Huila, Secretaría Técnica, 2006.** Manual Técnico del Cultivo de Maracuyá (*Passiflora edulis* L) en el Departamento de Huila. Neiva. 1^a Ed. Colombia. Pág. 32.

- Campbell, R. 1989.** Biological control of microbial plant pathogens. Cambridge University Press. Cambridge. Reino Unido. 218 Pág.
- Carsolio, C; Benhamou, N; Haran, S; Cortés, C; Gutierrez, A; Chet, I; Herrera-Estrella, A. 1999.** Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. Applied & Environmental Microbiology. 65^a Ed. Estados Unidos. Pág. 929 – 935. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC91125/>
- Castaño, J. (2009).** Enfermedades importantes en las pasifloráceas en Colombia. Colombia. Pág. 223 – 244.
- Cebolla, V; del Busto, A; Barreda, D; Martinez, P; Cases, B. 1989.** Study on Combined Soil Solarization Plus Fumigants to Control Some Soil-Borne Fungi and Weeds. Simposio Internazionale su Nuove Applicazioni dell'energia Solare in Agricoltura. 11 – 14 Dic. Italia.
- Cereda, E. 1994.** Formação e condução da cultura e sistemas de poda de Maracujá, produção e mercado. Departamento de Zootecnia e Fitotecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 255^a Ed. Brasil. Pág. 58-63.
- Chet, I; Benhamou, S. 1998.** Mycoparasitism and lectin enzymes. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. 2^a Ed. London, Reino Unido. Pág. 153 – 152.
- Chet, I; Inbar, J. 1994.** Biological control of fungal pathogens applied Biochemistry and Biotechnology. 48^a Ed. London, Reino Unido. Pág. 37 – 43.
- Correa, F. 1997.** Principales enfermedades del arroz. Manejo integrado de plagas. Artrópodos, enfermedades y malezas, Fundación Polar Venezuela, FEDEARROZ Colombia, FLAR, CIAT, Colombia. Pág. 123 – 141. Disponible en: <http://books.google.com.ec/books?id=CyQVgn5EYi0C&pg=PR6&lpg=PR6&dq=Principales+enfermedades+del+arroz.+Manejo+integrado+de+plagas.+Artr%C3%B3po>

dos,+enfermedades+y+malezas&source=bl&ots=pJ7kPmrrIV&sig=qzb9KYyk_j9RV5twYAQuJO94xgc&hl=es&sa=X&ei=rJLUUZ3TBIO29gSI7IGoDQ&ved=0CC8Q6AEwAQ

Dennis, L; Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III Hyphal interaction. Transactions of the British Mycological Society. 57^a Ed. London, Reino Unido. Pág. 363 – 369.

Durman, S; Menéndez, A; Godeas, A. 2003. Evaluación de *Trichoderma* sp. como antagonista de *Rhizoctonia solani* “*in vitro*” y como biocontrolador del damping off de plantas de tomate en invernadero. Revista Argentina de Microbiología. 31^a Ed. Argentina. Pág. 13 – 18.

Dorado, D; Rios, L, 2010. Manejo del Riego y la Nutrición del Maracuyá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*) en Sur del Valle del Cauca. Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora. Colombia. Pág. 63. Disponible en: www.asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca_57_varios.pdf

Elad, Y; Chet, I; Boyle, P; Hennies, Y. 1983. Parasitism of *Trichoderma* sp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. Revista Phytopathology. 73^a Ed. London, Reino Unido. Pág 85 - 88. Disponible en: http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1983Articles/Phyto73n01_85.PDF

Eveleigh, D; Demain, A; Solomon, N. 1986. *Trichoderma* Biology of industrial microorganisms. Biotechnology Series. 16^a Ed. Estados Unidos. Pág. 489 – 500.

Ezziyani, M. 2004. Biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annum* L.) mediante una combinación de microorganismos antagonistas. Tesis doctoral. España. 245 Pág. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10201/33004>

- Fernández, L. 2001.** Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas. 62^a Ed. Costa Rica. Pág. 96 – 100. Disponible en: <http://www.umoar.edu.sv/biblio/agricultura/enfermedades/contro%20fitosanitario.pdf>
- Fernandez, R; Suárez, C. 2009.** Antagonismo *in Vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp *passiflorae* en Maracuyá (*Passiflora edulis* Sims var. *Flavicarpa*) de Municipio Zona Bananera Colombiana. Revista Facultad Nacional Agropecuaria Medellín. 62^a Ed. Colombia. Pág. 4743 – 4748. Disponible en: http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1983Abstracts/Phyto73_85.htm
- Fisher, I; Rezende, J. 2008.** Diseases of Passion Flower (*Passiflora* sp.). Revista Pest Technology. 2^a Ed. Brasil. Pág. 1 – 19. Disponible en: [http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/0812/PT_2\(1\)1-19o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/0812/PT_2(1)1-19o.pdf)
- García, C. 2002.** Guía Técnica. Cultivo de Maracuyá Amarillo. Centa. El Salvador. 31 Pág. Disponible en: <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/frutales/Guia%20Maracuya.pdf>
- GÓMEZ, E. 2008.** Caracterización de cepas toxigenicas del género *Fusarium* mediante técnicas de biología molecular. Tesis doctoral. 62^a Ed. España. Pág. 115 – 120. Disponible en: <http://riunet.upv.es/handle/10251/3346>
- Guerrero-López, E; Hoyos-Carvajal, L. 2011.** Buenas prácticas agrícolas (BPa) con énfasis en el manejo integrado de plagas y enfermedades de gulupa (*Passiflora edulis* Sims). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Fondo Nacional de Fomento Hortifrutícola. Colombia. 43 Pág. Disponible en: http://www.bdigital.unal.edu.co/8547/16/09_Cap07.pdf
- Harman, G. E; Howell, C; Viterbo, A; Chet, I; Lorito, M. 2004.** *Trichoderma* Species Opportunistic Avirulent Plant Symbionts. Nature Review Microbiology. Estados

Unidos. Pág 43 – 56. Disponible en:
http://www.weizmann.ac.il/Biological_Chemistry/scientist/Chet/NR.pdf

Haram, S; Schickler, H; Oppenheim, A; Chet, I. 1996. Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. *Phytopathology*. 86^a Ed. Israel. Pág. 980 – 985. Disponible en:
http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1996Articles/Phyto86n09_980.PDF

Harman, E. 2001. *Trichoderma* sp., including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other sp. Deuteromycetes, moniliales (asexual classification system). Estados Unidos. Disponible en: <http://www.birdhybrids.com/t-22.htm>.

Harman, G. 2004. Mythos and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derive from research on *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Disease*. 84^a Ed. Estados Unidos. Pág. 377 – 393.

Haram, S; Schickler, H; Chet I. 1996. Molecular mechanisms of lictin enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Revista Microbiology*. 142^a Ed. Estados Unidos. Pág. 2321-2331.

Hernández, A. 2008. Protección de Cultivos: Otros Medios de Defensa. Control Biológico. Colombia. XII CONGRESO NACIONAL DE CIENCIAS HORTICOLAS.

Hjeljord, L; Tronsmo, A. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. 2^a Ed. Estados Unidos. Pág. 131-151.

Infante, D; Martínez, B; González, N; Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos, *Revista Protección Vegetal*. 24^a Ed. Cuba.

- Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. 1996.** Cultivo del Maracuyá. Guía Tecnológica 8. Managua, Nicaragua. 24 Pág.
- Larkin, R; Fravel, D, 1998.** Efficacy of Various Fungal and Bacterial Biocontrol Organisms for Control of *Fusarium* wilt of Tomato. Plant Disease. 82^a Ed. Estados Unidos. Pág 1022-1028.
- Lorenzo, N. 2001.** Prospección de hongos antagonistas en la provincia de Cienfuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de las cepas nativas de *Trichoderma* sp. Tesis en opción al título de Master en Protección Vegetal Universidad Agraria de La Habana. Cuba.
- Lorito, M; Harman, G; Prieto, A; Hayes, C. 1990.** Extracellular chitinolytic enzymes produced by *T. harzianum*, purification, characterization and molecular cloning. Revista Phytopathology. 82^a Ed. Estados Unidos. Pág. 10 – 77.
- Malavolta, E. 2002.** Fertilización del Maracuyá en: Nutrición y fertilización del maracuyá. Colombia.
- Martínez, B; Fernández, L; Solano, T. 1994.** Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. Cultivos Tropicales. 15^a Ed. Cuba. 54 Pág.
- Martínez, B; Reyes, Y; Infante, D; González, E; Baños, H; Cruz, A. 2008.** Selección de aislamientos de *Trichoderma* sp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. Revista Protección Vegetal. 23^a Ed. Cuba. Pág. 118 – 125.
- Martínez, J. 1998.** Uso de *Trichoderma* para el Control Biológico de Organismos Patógenos de Plantas. En Memorias del Simposium sobre Agricultura Orgánica y de baja residualidad. México. Pág. 25 – 27.

- Melgarejo, P; Sagasta, E. 1989.** Influence of *Penicillium frequentans* and two of its antibiotics on production of stromata by *Monilinia laxa* in culture. 67^a Ed. Canada. Pág. 83 – 87.
- Montoro, A. 2011.** Caracterización y Análisis del Desplazamiento de Fluidos No Miscibles en Medios Porosos. Tesis doctoral. Universidad de Cordoba. Argentina. Disponible en: http://www.efn.uncor.edu/archivos/doctorado_cs_ing/montoro/Tesis_Doctoral_Montoro.pdf
- Pérez, N. 2004.** Manejo Ecológico de plagas. CEDAR. La Habana. Cuba. 296 Pág.
- Pérez, Y; López, M, 2006.** Especies de *Trichoderma* presentes en Cuba y sustratos más frecuentes. Fitosanidad. 10^a Ed. Cuba. Pág. 128.
- Rifai, M. 1969.** A revision of the genus *Trichoderma*. Revista Mycology. 116^a Ed. Estados Unidos. Pág. 1 – 56.
- Rivero, D. 2008.** Identificación y control *in vitro* con quitosana y *Trichoderma* sp. de hongos que causan el manchado del grano en arroz (*Oryza sativa* L.). Revista Protección Vegetal. 23^a Ed. Cuba. Pág. 67. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522008000100014&script=sci_arttext
- Rodríguez, I. 1990.** Efecto antagónico de ocho aislamientos de *Trichoderma* contra *Fusarium moniliforme* (Booth) y *Fusarium subglutinans* (Booth). Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo Universidad Agraria de La Habana. Cuba.
- Samuels, G. 1996.** *Trichoderma*: a review of biology and systematic of the genus. Mycology Resistance. 100^a Ed. Estados Unidos. Pág. 923 – 935. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0953756296800438>
- Sanchez, M. 2003.** Tesis Doctoral: Actividad Biológica en la Rizosfera del Maracuyá *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* en diferentes sistemas de manejo, estados de desarrollo

y condiciones fitosanitarias. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica superior de Ingenieros Agrónomos. España. Pág.76-70.

Sandoval, I; López, M. 2002. Antagonismo de *Trichoderma harzianum*A-34 hacia *Macrophomina phaseoli* y otros patógenos fúngicos del fríjol. Fitosanidad. 4^a Ed. Cuba. Pág. 69 – 72. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/2091/209118243014.pdf>

Stefanova, M; Leiva, A; Larriganaga, L; Coronado, M. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* sp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Revista Facultad de Agronomía. 16^a Ed. Cuba. Pág. 509 – 516.

Sun, Q; Rost, T; Matthews, M. 2008. Wound-induced vascular occlusions in vitisvinifera (vitaceae): tyloses in summer and gels in winter. American Journal of Botany. 95^a Ed. Estados Unidos. Pág. 1498 – 1505. Disponible en: <http://matthews.ucdavis.edu/publications-1/wound-induced-vascular-occlusions-in-vitis-vinifera-vitaceae-tyloses-in-summer-and-gels-in-winter/view>

Ulloa, C. 1996. Enzimas micolíticas produzidas pelo agente de biocontrole *Trichoderma harzianum*. En: Actas del V de Simposio de control biológico. Anais: Conferencias y Palestras. Foz de Iguaçu-Parana. Brasil. Pág. 234 – 238.

Vero, S; Mondino, P. 1999. Control biológico postcosecha en Uruguay. Horticultura Internacional. 7^a Ed. Uruguay. Pág. 1 – 10.

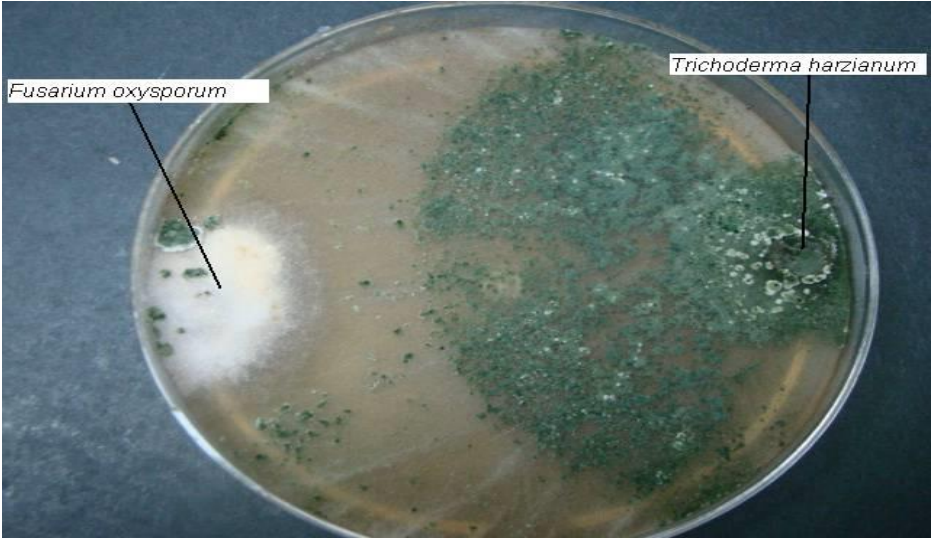
Villegas, M. 2008. *Trichoderma* Pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. Orius Biotecnología. Colombia. Disponible en: <http://www.oriusbiotecnologia.com/site/index.php?id=20,66,0,0,1,0>.

Zimand, G; Elad, Y; Chet, I. 1996. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. Phytopathology. 86^a Ed. Israel. Pág. 125 – 126. Disponible en:

http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1996Articles/Phyto86n11_1255.pdf

ANEXOS

Figura 1. Micoparasitismo e inhibición de *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum*



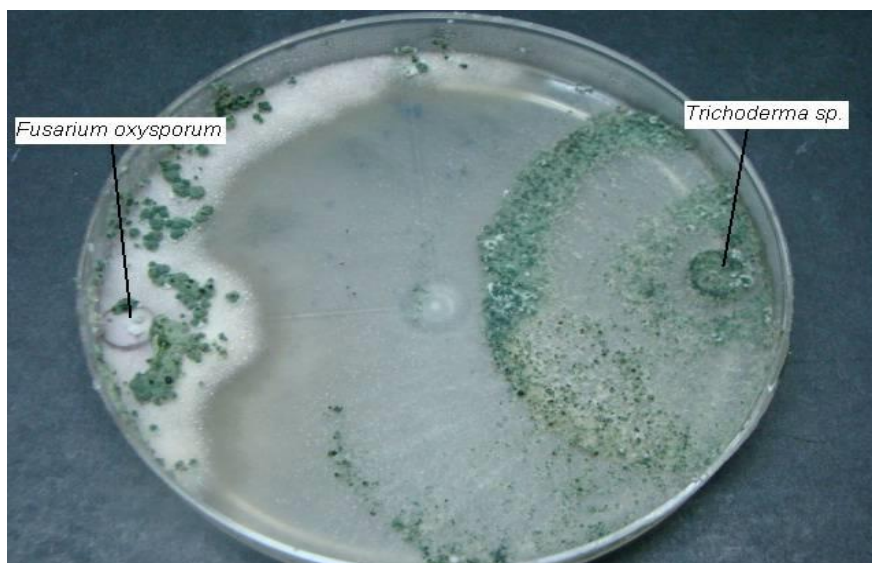
Tomada por el autor

Figura 2. Micoparasitismo e inhibición de *Trichoderma viride* sobre *Fusarium oxysporum*



Tomada por el autor

Figura 3. Micoparasitismo e inhibición de *Trichoderma* sp. sobre *Fusarium oxysporum*



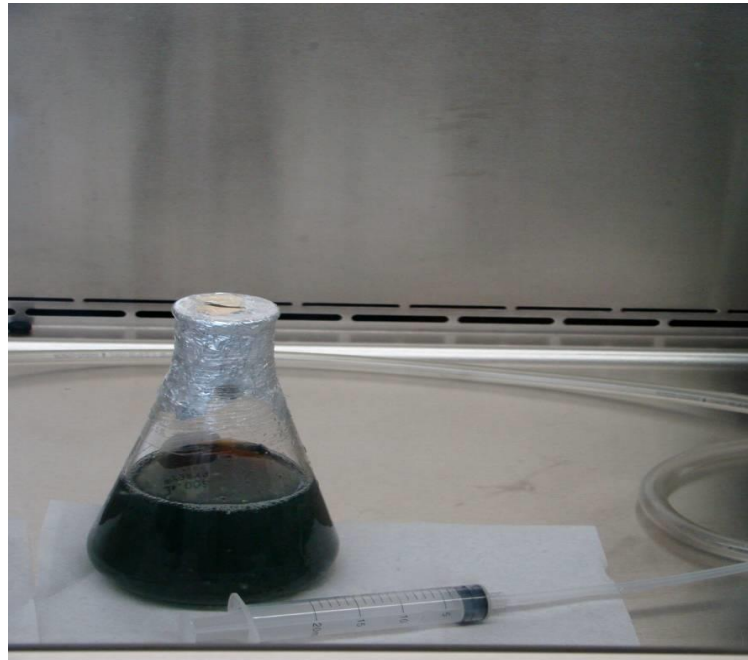
Tomada por el autor

Figura 4. Bandejas de germinación con plántulas de maracuyá



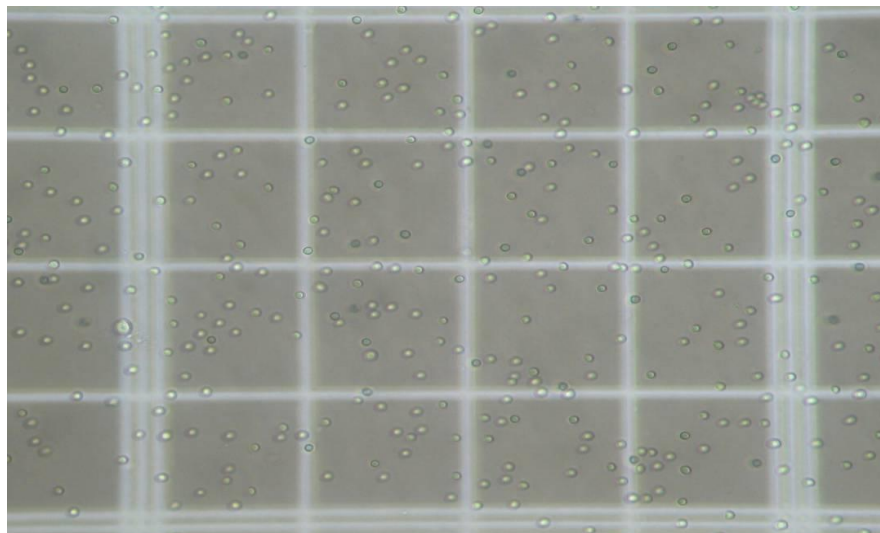
Tomada por el autor

Figura 5. Solución de esporas de *Trichoderma*



Tomada por el autor

Figura 6. Conteo de esporas de *Trichoderma* en cámara de Neubauer



Tomada por el autor

Figura 7. Sustrato después de esterilización



Tomada por el autor

Figura 8. Fundas llenas con sustrato antes de trasplante



Tomada por el autor

Figura 9. Sustrato colonizado por los *Trichoderma* y *Fusarium oxysporum*



Tomada por el autor

Figura 10. Transplante de plántulas de maracuyá a fundas.



Tomada por el autor

Figura 11. Disposición de plántulas en fundas divididas por sus tratamientos



Tomada por el autor

Figura 12. Toma de datos sobre daño ocasionado



Tomada por el autor

Figura 13. Medición de altura de plantas de maracuyá



Tomada por el autor

Figura 14. Raíces al finalizar el ensayo



Tomada por el autor

Cuadro 7a. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del crecimiento radial

ANDEVA						
F de V	GL	SC	CM	F calc.	F tabla	
					5%	1%
Tratamiento	2	6873.70	3436.85	58.01 **	2.74	4.0
EE	76	3377.15	59.25			
Total	79	10250.85	173.74			
Promedio			54.95			
CV=			14.01			

Elaborado por el autor

Cuadro 9a. Análisis de varianza de primera evaluación de altura de plantas

ANDEVA						
F de V	GL	SC	CM	Fcalc	F tabla	
					5%	1%
Tratamientos	10	[4.96]				
G 1	2	0.57	0.29	0.80 ^{NS}	3.12	4.90
G 2	2	0.83	0.42	1.16 ^{NS}	3.12	4.90
G 3	2	1.22	0.61	1.70 ^{NS}	3.12	4.90
G 4	1	0.63	0.63	1.74 ^{NS}	3.97	6.98
Grupos	3	1.71	0.57	1.59 ^{NS}	2.73	4.06
EE	77	27.63	0.36			
Total	87	32.59				
Promedio=			6.20			
CV=			9.67			

Elaborado por el autor

^{NS} No Significativo

Cuadro 9b. Análisis de varianza de segunda evaluación de altura de plantas

ANDEVA						
F de V	GL	SC	CM	Fcalc	F tabla	
Tratamientos	10	[7.49]			5%	1%
G 1	2	0.45	0.23	0.43 ^{NS}	3.12	4.90
G 2	2	0.60	0.30	0.56 ^{NS}	3.12	4.90
G 3	2	1.41	0.70	1.32 ^{NS}	3.12	4.90
G4	1	2.13	2.13	3.99 *	3.97	6.98
Grupos	3	2.90	0.97	1.82 ^{NS}	2.73	4.06
EE	77	41.00	0.53			
Total	87	48.49				
Promedio=			7.27			
CV=			10.04			

Elaborado por el autor

Cuadro 9d. Análisis de varianza de cuarta evaluación de altura de plantas

ANDEVA						
F de V	GL	SC	CM	Fcalc	F tabla	
Tratamientos	10	[21.29]			5%	1%
G 1	2	3.10	1.55	0.86 ^{NS}	3.1	4.90
G 2	2	6.16	3.08	1.71 ^{NS}	3.1	4.90
G 3	2	3.30	1.65	0.92 ^{NS}	3.1	4.90
G4	1	0.04	0.04	0.02 ^{NS}	3.9	6.98
Grupos	3	8.69	2.90	1.61 ^{NS}	2.7	4.06
EE	77	138.24	1.80			
Total	87	159.53				
Promedio=			11.33			
CV=			11.83			

Elaborado por el autor

^{NS} No significativo

* Diferencias Significativas

Cuadro 10a. Análisis de varianza del volumen de plantas.

ANDEVA						
F de V	GL	SC	CM	Fcalc	F tabla	
					5%	1%
Tratamientos	10	[0.55]				
G 1	2	0.01	0.00	0.49 ^{NS}	3.12	4.90
G 2	2	0.01	0.00	0.49 ^{NS}	3.12	4.90
G 3	2	0.00	0.00	0.16 ^{NS}	3.12	4.90
G4	1	0.29	0.29	41.71 ^{**}	3.97	6.98
Grupos	3	0.24	0.08	11.36 ^{**}	2.73	4.06
EE	77	0.54	0.01			
Total	87	1.09				
			Promedio=	0.93		
			CV=	9.06		

Elaborado por el autor

^{NS} No Significativo

^{**} Diferencias altamente significativas

Cuadro 11a. Análisis de varianza del peso de las raíces.

ANDEVA						
F de V	GL	SC	CM	Fcalc	F tabla	
					5%	1%
Tratamientos	10	[674.45]				
G 1	2	14.06	7.03	0.62 ^{NS}	3.12	4.90
G 2	2	25.40	12.70	1.12 ^{NS}	3.12	4.90
G 3	2	3.53	1.76	0.16 ^{NS}	3.12	4.90
G4	1	400.00	400.00	35.18 **	3.97	6.98
Grupos	3	231.46	77.15	6.79 **	2.73	4.06
EE	77	875.44	11.37			
Total	87	1549.90				
		Promedio=	36.67			
		CV=	9.20			

Elaborado por el autor

^{NS} No Significativo

** Diferencias Altamente significativas

CUADRO 12. Formato de toma de datos semanales

FECHA Y NÚMERO DE EVALUACIÓN										
	Repetición 1									
	T1	T2		T3		T4		T5		
	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño
obs 1										
obs 2										
obs 3										
	Repetición 2									
	T1	T2		T3		T4		T5		
	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño
obs 1										
obs 2										
obs 3										
	Repetición 3									
	T1	T2		T3		T4		T5		
	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño
obs 1										
obs 2										
obs 3										
	Repetición 4									
	T1	T2		T3		T4		T5		
	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño
obs 1										
obs 2										
obs 3										
	Repetición 5									
	T1	T2		T3		T4		T5		
	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño
obs 1										

obs 2										
obs 3										
	Repetición 6									
	T1		T2		T3		T4		T5	
	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño
obs 1										
obs 2										
obs 3										
	Repetición 7									
	T1		T2		T3		T4		T5	
	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño
obs 1										
obs 2										
obs 3										
	Repetición 8									
	T1		T2		T3		T4		T5	
	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño	altura	daño
obs 1										
obs 2										
obs 3										

Elaborado por el autor