



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**“Alternativas de manejo de la hernia de la col (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) en la parroquia de San Joaquín, Cuenca – Ecuador”**

*Tesis previa a la obtención del  
Título de Ingeniera Agrónoma*

**AUTORA:**

Janneth Elizabeth Viñansaca Jimbo.

CI: 0105386585

**DIRECTOR:**

Ing. Agr. Walter Iván Larriva Coronel M. Sc.

CI: 0101770865

**CUENCA – ECUADOR**

16 de julio de 2019



## RESUMEN

La horticultura en el Ecuador está concentrada en la región sierra por sus condiciones idóneas para estos cultivos, especialmente para la col, los mismos que son incrementados en la dieta del consumidor, *Brassica oleracea var. capitata*, es una de las hortalizas más apetecidas por la población debido a su valor nutritivo; en cuanto a la producción de col en el país, la provincia del Azuay ocupa el cuarto puesto con 698 Ton/ha seguido de las provincias de Cotopaxi, Imbabura y Pichincha. San Joaquín es la parroquia principal que provee estos productos y además los distribuye a Cañar, El Oro, Guayas y el Oriente; sin embargo, en los últimos años el bajo rendimiento de ciertas especies hortícolas es inducido por el ataque de *Plasmodiophora brassicae* que provoca la enfermedad conocida como “hernia de la col”, siendo los productores quienes han usado métodos de control ineficientes causando hasta abandono de las tierras. Por esta razón, el presente estudio va encaminado a evaluar la eficiencia que podrían tener productos entre biológicos y químico para manejar dicho problema fitosanitario.

Se planteó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA); los tratamientos fueron *Trichoderma harzianum*, *T. koningii* y PCNB (químico) en dos dosis y un testigo. Los mejores resultados se obtuvo con la aplicación de *Trichoderma koningii*,  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup>, este pudo controlar la enfermedad de mejor manera, además hubo mayor desarrollo de las plantas, mayor diámetro de tallo y genero un menor costo en comparación con los demás tratamientos. Por otro lado se encuentra el testigo y *T. harzianum*,  $1 \times 10^8$  ufc/cm<sup>3</sup> que no alcanzaron buenos resultados.

**Palabras claves:** *Trichoderma harzianum*. *Trichoderma koningii*. PCNB. *Brassica oleracea var. capitata*.

**ABSTRACT**

Horticulture in Ecuador is concentrated in the sierra region because of its ideal conditions for these crops, which are increased in the consumer's diet, cabbage is one of the vegetables most desired by the population due to its nutritional value; referring to the production of cabbage in the country, the province of Azuay occupies the fourth position with 698 tons / ha followed by the provinces of Cotopaxi, Imbabura and Pichincha. San Joaquin is the main parish that provides these products and also distributes them to Cañar, El Oro, Guayas and Oriente; however, in recent years the low yield of certain species horticultural is induced by the attack of *Plasmodiophora brassicae* which causes the disease known as the clubroot of crucifers, producers who have used inefficient control methods, causing even abandonment of land. For this reason, the present study aims at evaluating the efficiency that products between biological and chemical could have to handle this phytosanitary problem.

A DBCA was applied; treatments were *Trichoderma harzianum*, *T. koningii* and PCNB (chemical) in two doses and a witness. The best results were obtained with the application of *Trichoderma koningii*,  $1 \times 10^6$  cfu/cm<sup>3</sup>, this was able to control the disease in a better way, and there was also greater plant development, higher stem diameter and lower cost compared to other treatments. On the other hand is the witness and *T. harzianum*,  $1 \times 10^8$  cfu/cm<sup>3</sup> that did not reach good results.

**Key words:** *Trichoderma harzianum*. *Trichoderma koningii*. PCNB. *Brassica oleracea* var. *capitata*.



## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN .....	2
ABSTRACT.....	3
TABLA DE CONTENIDOS .....	4
ÍNDICE DE TABLAS .....	7
ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
ÍNDICE DE ANEXOS .....	9
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA.....	10
AGRADECIMIENTOS .....	13
DEDICATORIA .....	14
1. INTRODUCCIÓN.....	15
2. OBJETIVOS .....	17
2.1. Objetivo general del proyecto (OG) .....	17
2.2. Objetivos específicos (OE) .....	17
3. HIPÓTESIS .....	17
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	18
4.1. Cultivo de col ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. capitata) .....	18
4.2. Horticultura en San Joaquín.....	18
4.3. Horticultura en el Ecuador y Latinoamérica .....	19
4.4. Patógeno de la hernia de la col ( <i>Plasmodiophora brassicae</i> Woronin).....	19
4.4.1. Origen y clasificación taxonómica.....	19
4.4.2. Importancia de la enfermedad.....	19
4.4.3. Sintomatología.....	20
4.4.4. Descripción del patógeno y proceso infeccioso.....	21
4.4.4.1. Supervivencia en el suelo.....	22
4.4.4.2. Infección del pelo de la raíz.....	23
4.4.4.3. Infección cortical.....	23
4.4.4.4. Rango de hospederos.....	24
4.4.5. Condiciones para el desarrollo de la enfermedad.....	24
4.4.6. Manejo de la enfermedad.....	25
4.5. <i>Trichoderma sp</i> .....	27
4.5.1. Caracterización.....	27
4.5.2. Condiciones adecuadas para el desarrollo.....	28



4.5.3.	Beneficios de <i>Trichoderma sp</i> .....	28
4.5.4.	Mecanismos de Acción. ....	29
4.5.4.1.	<i>Micoparasitismo</i> . ....	29
4.5.4.2.	<i>Antibiosis</i> . ....	29
4.5.4.3.	<i>Competencia</i> . ....	30
4.6.	Quintozeno (PCNB).....	30
4.6.1.	Información general. ....	30
4.6.2.	Campo de actividad. ....	30
5.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
5.1.	Área de estudio .....	32
5.1.1.	Ubicación geográfica de la parroquia San Joaquín. ....	32
5.1.2.	Condiciones climatológicas.....	33
5.1.3.	Suelo y geomorfología. ....	33
5.1.4.	Ubicación del ensayo. ....	33
5.2.	Materiales.....	33
5.3.	Metodología .....	34
5.3.1.	Fase de laboratorio. ....	34
5.3.1.1.	<i>Obtención de especies de Trichoderma harzianum y T. koningii, y preparación de los tratamientos</i> .....	34
5.3.2.	Fase de campo. ....	34
5.3.2.1.	<i>Aplicación de los tratamientos</i> . ....	34
5.3.2.2.	<i>Toma de datos</i> .....	35
5.4.	Transformación de datos.....	36
5.5.	Análisis económico.....	36
6.	DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	37
6.1.	Diseño experimental .....	37
6.2.	Análisis estadístico.....	37
7.	RESULTADOS .....	39
7.1.	Comparación entre las dos especies de <i>Trichoderma</i> .....	39
7.1.1.	Altura de la planta. ....	39
7.1.2.	Diámetro del cuello de la planta.....	39
7.1.3.	Porcentaje de afección, plantas infectadas y sanas. ....	40
7.1.4.	Peso fresco de la planta. ....	40
7.2.	Comparación de todos los tratamientos en estudio.....	40



7.2.1.	Altura de planta. ....	40
7.2.2.	Diámetro del cuello de la planta.....	43
7.2.3.	Diámetro del tallo de la planta. ....	44
7.2.4.	Porcentaje de afección, plantas infectadas y sanas. ....	45
7.2.5.	Peso fresco de la planta. ....	45
7.2.6.	Peso seco de la planta (foliar). ....	46
7.3.	Análisis económico.....	47
8.	DISCUSIÓN.....	49
9.	CONCLUSIONES.....	52
10.	RECOMENDACIONES.....	53
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
11.	ANEXOS.....	62

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Coordenadas geográficas del terreno en la parroquia .....	33
<b>Tabla 2.</b> Escala de severidad de la enfermedad .....	35
<b>Tabla 3.</b> Tratamientos en estudio .....	37
<b>Tabla 4.</b> Esquema del análisis de varianza.....	37
<b>Tabla 5.</b> Prueba de Friedman para la variable altura a los 30, 60 y 90 d.d.t. ....	39
<b>Tabla 6.</b> Prueba de Friedman para la variable diámetro del cuello a los 90 d.d.t. ....	39
<b>Tabla 7.</b> Valores promedios (M) y desviación estándar (D.E.) de las variables porcentaje de afección, plantas infectadas y plantas sanas. ....	40
<b>Tabla 8.</b> Prueba de Friedman para la variable peso fresco.....	40
<b>Tabla 9.</b> Prueba de Friedman para la variable diámetro del tallo a los 60 d.d.t.....	44
<b>Tabla 10.</b> Valores promedios (M) y desviación estándar (D.E.) de las variables porcentaje de afección, plantas infectadas y plantas sanas. ....	45
<b>Tabla 11.</b> Análisis económico de costos variables de todos los tratamientos evaluados para 1 ha.....	48



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ubicación de la parroquia San Joaquín a nivel cantonal y provincial.....	32
<b>Figura 2.</b> Efecto de los tratamientos en la variable altura a los 30 d.d.t. ....	41
<b>Figura 3.</b> Efecto de los tratamientos en la variable altura a los 60 d.d.t. ....	42
<b>Figura 4.</b> Efecto de los tratamientos en la variable altura a los 90 d.d.t. ....	43
<b>Figura 5.</b> Efecto de los tratamientos en la variable diámetro del cuello a los 30 d.d.t. ....	44
<b>Figura 6.</b> Efecto de los tratamientos en la variable peso fresco.....	46
<b>Figura 7.</b> Efecto de los tratamientos en la variable peso seco (foliar).....	47



## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Escala de severidad de la enfermedad.....	62
<b>Anexo 2.</b> Variables que presentan distribución normal de los datos, para la comparación entre las dos especies de <i>Trichoderma</i> y el testigo, según la prueba de Shapiro–Wilks .....	62
<b>Anexo 3.</b> Variables que presentan homogeneidad de varianzas, para la comparación entre las dos especies de <i>Trichoderma</i> y el testigo, según la prueba de Levene.....	63
<b>Anexo 4.</b> Analisis de varianza para las variables que cumplen con los supuestos del ANOVA, en la comparación de las dos especies de <i>Trichoderma</i> y el testigo.....	63
<b>Anexo 5.</b> Variables que presentan distribución normal de los datos, para la comparación de todos los tratamientos, según la prueba de Shapiro–Wilks.....	63
<b>Anexo 6.</b> Variables que presentan homogeneidad de varianzas, para la comparación de todos los tratamientos, según la prueba de Levene .....	64
<b>Anexo 7.</b> Analisis de varianza para las variables que cumplen con los supuestos del ANOVA, en la comparación de todos los tratamientos en estudio.....	64



## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

ufc: unidades formadoras de colonias

cm<sup>3</sup>: centímetro cúbicos

ha: hectáreas

kg: Kilogramos

gr: gramos

PCNB: pentacloronitrobenceno

d.d.t.: días después del trasplante

M: valor de media

D.E.: valor de desviación estándar



---

## Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

---

Janneth Elizabeth Viñansaca Jimbo en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Alternativas de manejo de la hernia de la col (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) en la parroquia de San Joaquín, Cuenca – Ecuador”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 16 de julio de 2019

---

Janneth Elizabeth Viñansaca Jimbo

CI: 0105386585



## Cláusula de Propiedad Intelectual

---

Janneth Elizabeth Viñansaca Jimbo, autora del trabajo de titulación "Alternativas de manejo de la hernia de la col (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) en la parroquia de San Joaquín, Cuenca – Ecuador", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 16 de julio de 2019

---

Janneth Elizabeth Viñansaca Jimbo

CI: 0105386585



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por su amor y bendiciones, él que me ha dado fortaleza durante estos años para culminar la carrera.

Al Ing. Walter Larriva Mg. C., director de la tesis, quien puso sus conocimientos, su paciencia, su tiempo y todo su apoyo en la realización de este trabajo.

A la Dirección de Investigación de la Universidad de Cuenca (DIUC), el cual financio esta tesis, de la misma manera al laboratorio de Fitopatología y al de Semillas y Ecología Forestal por su asistencia y recursos.

A todas las personas que forman parte de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Carrera de Ingeniería Agronómica por haberme brindado sus conocimientos, amistad y apoyo incondicional en el transcurso de mi carrera, de manera especial a los miembros que conforman el tribunal: Dr. Eduardo Chica, Ing. Luis Minchala, Ing. Pedro Cisneros y Dr. Patricio Castro.

A mis amigos, compañeros y a la vez colegas: los/as Ings. Agrs. Fernando A, Marco M, Lenin T, Michelle Ch, Juan Andrés T, Christian C, Katherine O, Gabriela P, Daniel P, Byron O y Janeth J, por los buenos y malos momentos en este largo proceso.

Janneth Viñansaca J.



## DEDICATORIA

Con mucho cariño principalmente a José Luis y Cecilia, mis padres que me dieron la vida, gracias por su apoyo incondicional, por su amor, por enseñarme a luchar con razón y confianza, a mis hermanos: Juan Carlos, Fabián, Paola y Johanna por su ejemplo de perseverancia quienes me impulsaron a alcanzar este sueño. El logro de hoy es también de ustedes, resultado de sus esfuerzos, sacrificios y el tiempo invertido en mí

A mi Ángel de la Guarda, mi hermana Andrea Elizabeth, que aunque ya no está conmigo sé que desde el lugar que ella se encuentre me cuida y me protege.

Por lo que tuve, lo que tengo y tendré, gracias Dios.

Con amor y admiración.

Janneth Viñansaca J.



## 1. INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, a partir de la década de los años 90, la actividad hortícola ha crecido gradualmente debido a que los hábitos alimenticios de la población se han enfocado hacia un mayor consumo de hortalizas, introduciendo a estas en su dieta diaria. (FAO, 2009)

El país, tiene 2.600.000 hectáreas de superficie cultivada, de las cuales, en 123.070 hectáreas se cultivan hortalizas (FAO, 2009); dentro de éstas, la col ha buscado aumentar su rendimiento ya que se considera un cultivo de mayor interés para la explotación. (Rea, 2012)

Esta hortaliza es conocida en el país, puesto que se adapta rápidamente en el clima templado y frío (Rea, 2012); desarrollándose la actividad hortícola principalmente en la región Sierra, tanto por sus condiciones edáficas, climáticas y sociales, como por las técnicas y sistemas de producción que se aplican, ocupando el tercer lugar la provincia del Azuay detrás de Pichincha y Cotopaxi. (FAO, 2009).

La horticultura en la parroquia San Joaquín del cantón Cuenca, se caracteriza por la producción de una variedad de especies de hortalizas, siendo aproximadamente 26 diferentes especies hortícolas que se han venido cultivando conjuntamente con plantas medicinales y la crianza de animales menores, lo que le convierte a esta parroquia en una de las principales proveedoras de estos productos en la provincia del Azuay; en un estudio realizado se menciona que el 20% de la producción se comercializa en la ciudad de Cuenca, el resto se distribuye a Cañar, El Oro, parte del Guayas y el Oriente (Guamán & Tacuri, 2014).

Según el III Censo Nacional Agropecuario realizado en el año 2001, menciona que, la producción de col en el país es de 8616 Tm y un rendimiento promedio anual de 8.21 Tm/ha, además mencionan que un promedio de 1164 hectáreas han sido sembradas pero solamente 1049 hectáreas han sido cosechadas (INEC, MAG, & SICA, 2001); es decir la pérdida fue de 10% debido a diferentes causas, entre las más importantes el manejo inadecuado en el control de plagas y enfermedades.

Por otro lado la reducción del rendimiento del cultivo se ve afectado directamente por la enfermedad llamada hernia de la col causada por el patógeno *Plasmodiophora brassicae* Woronin que está difundido en varios países de Europa y América, caracterizado por presentar una gran capacidad de sobrevivencia en el suelo y de alta infección, dejando pérdidas económicas considerables a los productores (Almachi, 2013).



Dentro de los controladores biológicos de ciertos patógenos, se encuentra *Trichoderma sp.* que está relacionada con la producción de toxinas y de enzimas líticas; éste hongo benéfico, es muy usado, debido a la acción que tiene bien sea como micoparasitismo, antibiosis, competencia de nutrientes y espacio, permitiéndole actuar como biocontrolador y colonizador de raíces (C. F. Hernández & Plasencia, 2013), actividad biológica ésta que le convierte a *Trichoderma* en una alternativa a ser evaluada como agente biocontrolador de *P. brassicae* Woronin. Además, León (2015) menciona que este hongo antagónico no deja residuos en la tierra y actúa como un habitante natural del suelo respetando el sabor más original de cultivos comestibles.

Asimismo, Tewari et al., (2005) indica que pentacloronitrobenceno es el ingrediente activo de los fungicidas registrados para combatir la hernia de la col, que por lo general es de bajo costo y fácil uso. También es empleado para cubrir las semillas y tratar la tierra, sus formulaciones incluye emulsificantes concentrados, en polvo líquido absorbente y en gránulos (Reigart & Roberts, 1999).

En la parroquia San Joaquín, existe la presencia del patógeno, el control se realiza con el uso de productos químicos no específicos para la enfermedad, además los controles tradicionales que han utilizado los agricultores de la zona han sido ineficientes, de tal manera que en ciertos casos se ha preferido abandonar el área contaminada y no cultivarla, siendo necesario evaluar la eficiencia que podrían tener productos entre biológicos y químico para manejar dicho problema fitosanitario.



## 2. OBJETIVOS

Por lo expuesto anteriormente los objetivos que se plantearon en la presente investigación fueron los siguientes:

### 2.1. Objetivo general del proyecto (OG)

- Evaluar una alternativa de manejo eficiente de la hernia de la col en condiciones de la parroquia San Joaquín, en predios de pequeños productores de hortalizas.

### 2.2. Objetivos específicos (OE)

- Conocer la eficiencia de dos (2) especies de *Trichoderma* en el manejo/control del fitopatógeno *Plasmodiophora brassicae*.
- Conocer la eficiencia de quintozeno (pcnb) en el manejo/control del fitopatógeno *Plasmodiophora brassicae*.
- Determinar la mejor dosis para manejar dicho patógeno.
- Realizar el análisis económico de los tratamientos en estudio.

## 3. HIPÓTESIS

HO: Ninguno de los tratamientos evaluados es efectivo como alternativa de manejo de la hernia de la col.

HA: Al menos uno de los tratamientos evaluados es efectivo como alternativa de manejo de la hernia de la col.



## 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1. Cultivo de col (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*)

La col pertenece a la familia de las Brassicaceas, su sistema radicular es fibroso y abundante, forma un tallo pequeño al principio para luego engrosarse, sus hojas son de color verde claro con nervaduras muy pronunciadas, las flores solo tienen cuatro pétalos dispuestos en forma de cruz de color amarillo y el fruto tiene un diámetro de 2 a 3 mm, de color café o gris. (Rengifo, 2013)

Este cultivo se encuentra en el grupo de las hortalizas más apetecidas por el consumidor, por tal razón, en los últimos tiempos, se ha convertido en un producto de mayor aceptación, pues el horticultor se ve en la necesidad de cultivarlas en áreas pequeñas pero obteniendo mayor producción. (Rea, 2012)

Según Guambo (2010), indica que SIGAGRO considera que la producción de col en el país, encabeza la provincia de Cotopaxi con 25200 Ton/ha, seguido de Imbabura y Pichincha, dejándole en cuarto puesto a la provincia del Azuay con 698 Ton/ha.

### 4.2. Horticultura en San Joaquín

San Joaquín es considerada una parroquia agrícola que provee de hortalizas a los mercados del austro del país sobre todo, gracias a la asociación y rotación de sus cultivos hortícolas cuya producción se basa en las exigencias del mercado, todo lo cual la ha convertido en una zona importante para la economía de la provincia del Azuay (Araujo, 2014).

La parroquia tienen una superficie de 21007.61 ha (Granda, 2011), pero un estudio citado por Lozada (2011) manifiesta que, existe un total de 880.50 hectáreas cultivadas, donde solamente el 11.13% representa la producción de hortalizas. Dentro de las especies más cultivadas se encuentran las siguientes: col 48.18 ha, culantro 15.93 ha, zanahoria 13.63 ha, lechuga 8.35 ha, coliflor 6.45 ha, perejil 3.03 ha, ajo 1.37 ha, acelga 0.53 ha, espinaca 0.30 ha, apio 0.23 y también cebolla, rábano, remolacha y nabo.

Los suelos de esta parroquia permiten que todos los meses del año sean favorables para cultivar, ya que se puede cosechar una siembra e inmediatamente sembrar otro producto, esto favorece a los mercados para que no exista desabastecimiento de hortalizas (Guamán & Tacuri, 2014).



### 4.3. Horticultura en el Ecuador y Latinoamérica

La actividad hortícola en el país se va incrementando debido a las condiciones edafoclimáticas favorables que permite cultivar diversas especies vegetales, las cuales constituyen un pilar fundamental en cuanto a la estructura alimentaria y económica del país (García, 2018). Las hortalizas ofrecen una alternativa muy clara para los agricultores medianos y pequeños, debido a la diversidad de productos, lo cual permite una mayor seguridad en la comercialización aprovechando los diferentes mercados. (Lozada, 2011)

A partir del año 2011 en Latinoamérica y el Caribe, la actividad hortícola ha mostrado un crecimiento debido a sus condiciones propicias, consiguiendo exportar a importantes mercados en países como China, España y Dinamarca. En los últimos años en América Latina, la superficie dedicada a hortalizas se redujo en un 1% debido a problemas relacionados con plagas y enfermedades resistentes por el mal manejo de agroquímicos empleados anteriormente como solución. (García, 2018)

### 4.4. Patógeno de la hernia de la col (*Plasmodiophora brassicae* Woronin)

#### 4.4.1. Origen y clasificación taxonómica.

Esta enfermedad fue reportada por primera vez en los EEUU en el año de 1852, al final del siglo XIX provocó grandes pérdidas de la cosecha de la col en San Petersburgo Rusia, por este motivo la Sociedad de Jardinería de Rusia ofreció un premio a la persona que pudiera identificar la causa y sugiera un método de control; en 1875 un científico ruso de nombre Woronin logró identificar como “organismo plasmodiophorous” y le dio el nombre de *P. brassicae* (Arenales, 2017).

*Plasmodiophora brassicae* Woronin es un patógeno que pertenece al Reino Protozoa, Phylum Cercozoa, Orden Plasmodiophorales y Familia Plasmodiophoridae, es el agente patógeno causante de la enfermedad “hernia de la col”, “hernia de la raíz”, o “nudo de la raíz de las brassicaceas” (Salcedo, 2016)

#### 4.4.2. Importancia de la enfermedad.

*Plasmodiophora brassicae* Woronin en la última década se ha transformado en un problema fitosanitario de importancia para las brassicaceas, siendo significativo para los cultivos de



brócoli, coliflor y repollo, provocando un alto impacto económico en la sierra ecuatoriana. (Salcedo, 2016)

Una superficie grande del cultivo de hortalizas está siendo ocupada en la región Sierra, donde la provincia de Cotopaxi representa un 83% en la producción de brassicaceas especialmente de brócoli, exactamente en esta zona apareció y se encuentra presente este patógeno, el cual provoca pérdidas económicas a los productores. (Almachi, 2013)

En Colombia apareció por primera vez en el año de 1978 donde tomaron medidas cuarentenarias de rigor y a pesar de lo cual se diseminó la enfermedad causando hasta el 90% de pérdidas en la producción de brassicaceas; a nivel mundial provoca pérdidas entre un 10 y 15% (Balaguera, Beleño, & Wiest, 2015).

La enfermedad está muy extendida en todo el mundo, especialmente en regiones templadas y húmedas. Las epidemias se desarrollan rápidamente a medida que aumenta la intensidad del cultivo de Brassicaceae. Se menciona que la llegada del patógeno a Europa resultó del transporte del forraje enfermo tomado por los colonos que viajaban a América, Australia y a otros lugares. La información inédita indica la presencia de *P. brassicae* en varios países, en particular en el continente americano como: Canadá, Alaska, México, Estados Unidos, Venezuela, Brasil, Chile, Argentina (Dixon, 2009).

#### **4.4.3. Sintomatología.**

El síntoma principal de esta enfermedad es la aparición de porciones hinchadas esféricas alargadas que miden de 2 a 5 cm, tanto como en las raíces secundarias como en la raíz principal, al principio estas agallas son firmes y blancas en el interior, cambiando posteriormente a un color marrón, lo cual es el resultado del proceso de descomposición del tejido afectado (Almachi, 2013; Tewari et al., 2005); Agrios (2005) menciona que las raíces muestran tumores o hinchamientos en forma de “huso”, mismos que en la raíz principal son globosos, en cambio en las raíces secundarias son alargados, todos estos al inicio de su desarrollo son lisos, para luego volverse rugosos, como secuela de esto, se detiene el crecimiento del eje principal y da lugar al desarrollo de numerosas raicillas anormales, largas y fibrosas.

Este patógeno reduce la capacidad de absorción de agua y nutrientes a través de la raíz, retrasando el crecimiento y a la vez ocasiona marchitamiento (Strelkov, Manolii, Cao, Xue, & Hwang, 2007). Este marchitamiento se puede confundir con la falta de agua, pero el grado de



desarrollo de esta enfermedad depende de: el tiempo de infestación, la especie sembrada, la tasa de crecimiento del cultivo y las condiciones del suelo principalmente humedad y temperatura. (Arenales, 2017)

Al inicio el cultivo presenta un vigor normal, con el transcurso del tiempo las plantas no se van alimentando y se origina un enanismo, si el comportamiento es severo de la enfermedad, puede causar la muerte entre las 4 y 5 semanas después del transplante; las plantas afectadas también presentan clorosis, siendo evidente este síntoma en horas de mayor intensidad solar y recuperándose en la noche (Almachi, 2013)

Tamayo, (2006) indica que, si esta enfermedad se presenta en el semillero, se estima que existe una alta pérdida de plántulas durante el transplante y si se muestra durante el desarrollo, la formación de cabezas del repollo, el brócoli y la coliflor se reducen, además el autor señala que el patógeno puede causar disminución del rendimiento del cultivo en un 20 al 50%.

En un estudio realizado por Balaguera et al.(2015), pudieron observar que las raíces engrosadas (hipertrofia) y malformadas, con abultamiento esféricos (quistes), presentaban pudrición con un olor muy fuerte característico de la enfermedad. Además clorosis, marchitamiento y colores verdes más claros de lo normal en la parte aérea; también defoliación basal del tallo y el comienzo de la pudrición del mismo.

En el caso del nabo y rábano, cuando ataca el patógeno su síntoma inicial no es la formación de agallas, si no la aparición de lesiones de color negro deprimidas a lo largo de la superficie de la raíz. (Salcedo, 2016)

#### **4.4.4. Descripción del patógeno y proceso infeccioso.**

*Plasmodiophora brassicae* Woronin es un organismo parasito obligado, no tiene micelio, su cuerpo es un plasmodio que se desarrolla solo cuando se encuentra dentro de las células de la raíz, desde este plasmodio multinucleado se propagan las esporas de hibernación y de descanso (miden menos de 4 micras de diámetro), al momento que las membranas que cubre a estas esporas se rompen, estas salen expulsadas al exterior; las zoosporas primarias son uninucleadas, esféricas, hialinas y tienen un diámetro de 2.5 a 3.5  $\mu\text{m}$ , que crecen al interior del huésped, originando plasmodios que darán lugar a numerosos zoosporangios. De cada zoosporangio se produce de 4 a 16 zoosporas secundarias (muy similares a las zoosporas primarias) (Arenales, 2017). La zoospora primaria es de forma de huso o piriforme y



biflagelada, el flagelo tiene dos formas: corto con el extremo embotado o largo con un látigo cervical (Kageyama & Asano, 2009).

Según Kageyama & Asano (2009), el ciclo de vida de *P. brassicae* se compone de tres etapas: supervivencia en el suelo, infección del pelo de la raíz y finalmente infección cortical.

#### **4.4.4.1. Supervivencia en el suelo.**

*Plasmodiophora brassicae* Woronin, produce estructuras de resistencia denominadas quistes los cuales tiene la capacidad de sobrevivir en el suelo; el tiempo que puede permanecer viable el patógeno, se estima en un período de 3 a 6 años e incluso 17 años (Wallenhammar et al., 2013). La liberación de los iones de calcio desencadena la germinación de las esporas de descanso. Además la germinación de los quistes depende de la edad de las raíces ya que se ha demostrado que a partir de raíces con hernias viejas incluso descompuestas tiene mayor poder de germinación que las extraídas de hernias duras pequeñas (Salcedo, 2016).

Estudios de campo muestran que las “esporas” llamadas zoosporas de *P. brassicae* viven al menos 3.6 años y algunas pueden vivir hasta 18 años en ausencia de huéspedes apropiados antes que las poblaciones de esporas se deterioren hasta niveles indetectables (Dixon, 2009).

Kageyama & Asano (2009) indican que, las esporas de reposo pueden sobrevivir sin plantas hospedantes durante 5 años, la vida media de un inóculo es de 3 a 6 años en campos muy infestados y que el nivel de infección disminuye a un nivel detectable después de un período de 17.3 años.

Dicho patógeno puede ser transportado en las partículas de suelo que se adhieren a: herramientas, equipos, animales y personas. Es muy común, que en los terrenos no contaminados, el patógeno llegue en los materiales de trasplante (plántulas) infectados y también en el agua que atraviesan suelos donde se ha presentado la enfermedad (Balaguera et al., 2015).

Una agalla grande puede contener miles de millones de esporas en reposo, que se liberan en el suelo cuando la raíz se descompone, por lo que el cultivo frecuente de hospedadores susceptibles favorece la acumulación de esporas en el suelo (Hwang et al., 2017).



#### **4.4.4.2. Infección del pelo de la raíz.**

Cuando una zoospora primaria logra alcanzar el área de los pelos radiculares, se introduce a través de la pared celular y ocurre la infección. El patógeno dentro de los pelos radiculares forma plasmodios primarios donde se producen varias divisiones nucleares sincrónicamente, luego de una ruptura de los zoosporangios los mismos que forman racimos en los pelos radiculares y en algunos de los casos en las células epidérmicas. Posteriormente, en cada fusión de dos zoosporas distintas se crean las zoosporas secundarias (entre 4 – 16) las cuales van a penetrar los tejidos corticales. (Kageyama & Asano, 2009).

Ayers (2011), estudió la germinación de esporas en reposo desinfectadas en la superficie y su infección de pelos radiculares en *Brassica rapa*, las esporas en reposo desinfectadas mostraron una mayor germinación que las esporas en reposo no desinfectadas; en tanto que la infección de los pelos radiculares comenzó cuatro días después de la inoculación, aumentó rápidamente hasta el sexto día post inoculación y continuó aumentando más lentamente hasta 10 a 12 días después de la inoculación. La mayoría de los plasmodios primarios se diferenciaron a zoosporangios maduros a los 8 – 10 días posterior a la inoculación. Las zoosporas secundarias se liberan inicialmente 6 días después de la inoculación.

#### **4.4.4.3. Infección cortical.**

Dentro de las células infectadas, el patógeno desarrolla plasmodios secundarios que proliferan y se asocian con la hipertrofia celular, seguido de la formación de agallas en los tejidos de la raíz. Después de un número de divisiones nucleares, al inicio del crecimiento el plasmodio secundario contiene dos núcleos y después se convierte en plasmodio multinuclear. En el plasmodio con núcleos haploides, los núcleos pueden fusionarse formando núcleos diploides; además, la división meiótica puede ocurrir en el plasmodio diploide, indicando que el plasmodio vuelve al estado haploide otra vez (Kageyama & Asano, 2009).

El plasmodio producido por germinación de las zoosporas secundarias penetra directamente en los tejidos jóvenes de la raíz (base de los tallos y raíces engrosadas) y también a través de heridas, este plasmodio avanza hacia las células corticales y de esta manera llega al cambium; desde esta zona, el plasmodio se propaga en todas direcciones hacia la corteza y el xilema (Agrios, 2005).

Finalmente, el plasmodio se desarrolla dentro de las esporas de reposo luego para liberarse en el suelo como estructuras de supervivencia; durante estas divisiones complejas, el patógeno



produce esporas de reposo y aumenta su diversidad genética. En la superficie de cada espora de reposo se encuentra espinas. (Kageyama & Asano, 2009)

Una agalla grande puede contener miles de millones de esporas en reposo, que se liberan en el suelo cuando la raíz se descompone, por lo que el cultivo frecuente de hospedadores susceptibles favorece la acumulación de esporas en el suelo. (Hwang et al., 2017)

#### **4.4.4.4. Rango de hospederos.**

El patógeno tiene un amplio rango de hospederos, incluyendo algunas plantas no crucíferas (Salcedo, 2016). Además, se puede desarrollar en malas hierbas de la misma familia que son susceptibles y pueden servir como reservorios de esporas (Fernández, 2007).

Existen varias malezas que sirven como plantas hospederas secundarias del hongo causante de la hernia de la col y que a su vez favorecen la producción de nuevas esporas de reposo, entre estas se mencionan: *Armoracia rusticana*, *Brassica hirta*, *Brassica kaber*, *Camelina sativa*, *Camelina microcarpa*, *Capsella bursa-pastoris*, *Erysimum asperum*, *Lepidium campestre*, *Rorippa islándica*, *Rorippa silvestris*, *Sisymbrium altissimum*, *Sisymbrium officinale*, *Thlaspi arvense*. La eliminación de éstas es importante para reducir el riesgo de contaminación hacia otros campos (Tewari et al., 2005).

Si bien se considera una enfermedad propiamente de las crucíferas, se dice que *P. brassicae* Woronin puede causar enfermedad en otras especies de plantas como: *Agrostis stolonifera*, *Dactylis glomerata*, *Fragaria spp*, *Lolium perenne*, *Papaver rhoeas*, *Rumex spp*. Aún no está comprendido la función de estas plantas en el ciclo de la enfermedad y la importancia puede ser muy limitada (Tewari et al., 2005).

#### **4.4.5. Condiciones para el desarrollo de la enfermedad.**

Las esporas de reposo permanecen activas cuando se mantienen a 40 °C durante 24 h, pero se inactivan cuando se exponen a 30 °C durante 14 días, según un estudio realizado por Kageyama & Asano (2009). Ayers (2011), indica que estas esporas liberadas del tejido infectado, germinan bien en el agua del grifo a temperatura ambiente entre 1 a 10 días; la germinación de estas se acelera por la exposición a las heladas.

Según Cedeño, Dominguez, Briceño, Pino, & Quintero (2006), citan que *P. brassicae* se disemina mejor en suelos fríos, húmedos y ácidos, por lo tanto, en estas condiciones el número



de plantas enfermas aumenta. En suelos ácidos la enfermedad ocurre a temperaturas que van desde 10 °C a 35 °C, pero más favorables entre 20 °C y 25 °C; en los suelos alcalinos el rango de temperaturas favorables es mucho menor; sin embargo, el pH del suelo es otro factor que afecta a la tasa de producción de zoosporas primarias (Dixon, 2009).

La concentración de iones de calcio puede estar relacionada con la germinación de esporas. Dixon (2009) encontró que el aumento en la concentración de calcio alrededor de las raíces reduce el desarrollo de zoosporas en los pelos radiculares y retrasa la liberación de zoosporas secundarias; estos efectos están relacionados con el éxito del control del patógeno con el encalado del suelo. No obstante, Tewari et al. (2005) mencionan que, el encalado no ha dado buenos resultados cuando tenemos campos con altas concentraciones de esporas, no sería práctico subir el suelo a un pH de 7.3 – 7.5 como un método de control, especialmente para cultivos de canola (*Brassica napus*)

Fernández (2007) indica que la enfermedad puede llegar hasta el 100% de incidencia cuando: la humedad del suelo mayor del 50% de la capacidad de campo, la temperatura del ambiente se encuentra de 9 a 20 °C, la humedad relativa de 80 a 85 %, el pH de 5 a 7; y la temperatura en el suelo esté entre los 9 y los 38 °C. (Adanza, 2017)

Para Agrios (2005) la enfermedad es predominante y severa en un pH cercano a 5.7, mientras que su desarrollo se declina pronunciadamente entre 5.7 y 6.2 y se inhibe por completo a un pH de 7.8. Además este autor menciona que sea la forma del nitrógeno (amonio o nitrato) de que dispone el hospedante o el patógeno lo que en realidad afecta la severidad de la enfermedad o la resistencia de la planta es más que a la cantidad de nitrógeno en sí. De las numerosas enfermedades, tratadas con cualquier forma de nitrógeno, casi todas disminuyen o incrementan su severidad cuando se tratan con nitrógeno amoniacal (como ocurre cuando se tratan con nitrato), pero cada una de las formas de nitrógeno tiene exactamente el efecto opuesto sobre una enfermedad (es decir, disminuye o aumenta su severidad) que el que ejerce cualquier otra forma de este elemento. Por ejemplo, *Fusarium spp*, *Plasmodiophora brassicae*, *Sclerotium rolfsii* aumentan su severidad cuando se aplica un fertilizante en forma de amonio

#### **4.4.6. Manejo de la enfermedad.**

Para reducir la población de esporas en un campo, se recomienda realizar rotaciones de al menos cuatro años, aunque se han recomendado de cinco a siete años o más, dependiendo de la concentración de esporas. Las rotaciones más cortas beneficiarán el desarrollo de *P.*



*brassicae*. Una vez que un campo se encuentre infectado lo ideal sería disminuir el desarrollo del patógeno para evitar que se produzcan altas concentraciones de esporas. En un suelo infectado, la siembra directa que reducen el movimiento del suelo a través de la erosión eólica o hídrica, la humedad excesiva debido a la inundación o la acumulación de agua dentro de un campo puede aumentar el riesgo de la hernia de la col si el patógeno está presente. (Tewari et al., 2005)

En cuanto al control químico, pentacloronitrobenceno (quintozeno) es el ingrediente activo de los fungicidas registrados para combatir la hernia de la col, que por lo general es de bajo costo y fácil uso (Tewari et al., 2005). Además este fungicida puede ser espolvoreado directamente o mezclado en agua, distribuyéndolo uniformemente a través del terreno a una profundidad de 10 a 12 cm, también puede ser fumigadas las bandas donde se va a sembrar (10 – 15 kg/banda) antes del transplante o en forma total 20 – 40 kg/ha. (TERRALIA, s.f.)

Las aplicaciones de un biopreparado a base del hongo *T. harzianum* resultaron efectivas en la regulación de *P. brassicae* en brócoli, habiendo mostrado en un efecto positivo sobre el porcentaje de plantas sanas y los rendimientos estimados del cultivo, en un grado que dependió de las dosis utilizadas (Tratamiento 1: 2,53 x 10<sup>8</sup> UFC/m<sup>2</sup>. Tratamiento 2: 5,16 x 10<sup>8</sup> UFC/m<sup>2</sup>. Tratamiento 3: 7,81 x 10<sup>8</sup> UFC.m<sup>2</sup>), de los cuales el tratamiento tres (3) fue el más eficiente, ya que no presentó agallas. (Labrador, Del Pozo, & Garcia, 2013)

El progreso y los posibles campos de control biológico para la hernia de la col se ven limitadas a otras enfermedades de plantas transmitidas por el suelo, y no hay productos comerciales de control biológico disponibles, sin embargo, solo se han informado algunos microorganismos antagónicos, incluyendo *Micromonospora rosea subsp. rosea*, *Streptomyces spp*, *Streptoverticillium olivoreticuli*, *Cellulosimicrobium cellulans* y *Paenibacillus spp*. En un estudio realizado por Sheng, Sae, Woobong, & Byung, (2014), mencionan los efectos supresores de *P. kribbensis* cepa T-9 contra *P. brassicae*, se evaluaron en el invernadero y el campo en 2011 y 2012, donde se encontró que el resultado observado en el campo es más bajo que el del experimento en invernadero. Para el segundo experimento (invernadero), la cepa mostró una buena eficacia de control de 89.3% y 99.2% en 2011 y 2012, respectivamente. En cambio para el primer ensayo (campo), no hubo un impacto sustancial, pero el tratamiento redujo la enfermedad, con severidad de 79.6% y 82.2% en 2011 y 2012, respectivamente.



#### 4.5. *Trichoderma sp*

##### 4.5.1. Caracterización.

Es un hongo anaerobio facultativo microscopio, que se encuentra de manera natural en los suelos agrícolas y otros tipos de medio. Fue identificado por primera vez en el año de 1871. Pertenece al orden Moniliales y a la familia Moniliaceae. Este género conforman más de 30 especies distribuidas en el mundo, especialmente donde habita materia orgánica o desechos vegetales en descomposición, residuos de cultivos precisamente los que son atacados por otros hongos (Bustamante, 2015); sin embargo, Garcia, Riera, Zambrano, & Gutierrez, (2006) mencionan que el género *Trichoderma* solamente conforma cinco especies consideradas como antagonistas: *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum*, *T. pseudokoningii* y *T. viride*.

Es un agente de control biológico, por su rápido crecimiento y desarrollo, también produce una gran cantidad de encimas que ayudan a degradas a otros organismos, cuya secreción se provoca la presencia de hongos fitopatógenos. La mayoría de estas colonias son de color blanco al inicio para luego tornarse de color verde oscuro o amarillo, con esporulación densa. Su micelio es escaso y fino visto microscópicamente, los conidióforos son ramificados que parecen un árbol pequeño, estos conidióforos se muestran como penachos compactados que forman anillos con un sistema de ramas irregulares en forma de pirámide. (Bustamante, 2015)

A causa de su densa esporulación, origina tres tipos de propágulos (hifas, clamidosporas y conidias), los mismos que tienen una pared gruesa de tres capas (endospora, epísora y períspora) que protege el interior del conidio (protoplasto), la ventaja del conidio que esté cubierto por esta pared es la gran posibilidad de aislar en un medio natural sobreviviendo a condiciones inadecuadas y que se mantenga en dormancia hasta que las condiciones sean apropiadas para la germinación. (Zhirvi, 2016)

Es compatible con herbicidas, insecticidas químicos, fertilizantes de reacción ácida e insecticidas biológicos cuya formulación sea a base de hongos. No es compatible con fungicidas ni con productos desinfectantes del suelo. (Chuquimarca, 2010)

*Trichoderma* puede degradar sustratos muy complejos como almidón, pectina y celulosa entre otros, y emplearlos para su crecimiento gracias a que posee acción enzimática. También es capaz de asimilar como fuente de nitrógeno compuestos tales como aminoácidos, urea, nitritos, amoniac y sulfato de amonio (Sivila & Alvarez, 2013). En cuanto a solubilización de



los nutrientes minerales, *T. harzianum* puede solubilizar diversos nutrientes de la planta, como el fosfato de roca,  $Fe^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{4+}$  y  $Zn^0$  que pueden ser limitantes a las plantas en ciertos suelos. Igualmente produce metabolitos difusibles capaces de reducir ácidos complejos. (Contreras, Macias, Del Val, & Larsen, 2016)

#### 4.5.2. Condiciones adecuadas para el desarrollo.

Posee una alta capacidad de tolerar un amplio rango de temperaturas, presentando una amplia distribución ecológica (Sivila & Alvarez, 2013). Se adapta a cualquier hábitat, la temperatura óptima de crecimiento es de 25 °C, pero puede crecer entre 15 y 35 °C, en cuanto a la humedad se desarrolla alrededor de 70% y como es un hongo anaerobio facultativo puede estar en condiciones aerobias y anaerobias (Hernández & Plasencia, 2013). La presencia de un alto porcentaje de humedad y riego mejora las condiciones de vida de muchos microorganismos entre ellos *Trichoderma*, pasando de un estado latente a uno activo y desarrollándose perfectamente hasta en un 60 % de humedad. Cuando existe mayor porcentaje de saturación se disminuye la colonización y sobrevivencia por la baja disponibilidad de oxígeno. En condiciones de pH ácido, su población se incrementa por la masiva formación de conidióforos, por la germinación de conidias y por menor competencia con microorganismos como actinomicetos y bacterias que se encuentran limitados por la acidez. (Villegas, s.f.)

La mayoría de especies del género *Trichoderma* son fotosensibles, presentan una mayor esporulación al ser expuestas a la luz. Pero, cuando se somete a períodos de luz y oscuridad alternadamente, se favorece la colonización del hongo sobre diferentes sustratos sólidos. Por otro lado, la salinidad es otro factor de gran importancia debido a que este hongo cuando se encuentra con altas concentraciones de cloruro de sodio (80 g/l aproximadamente) inhibe su crecimiento, aunque puede tolerar hasta de 60 g/l de NaCl, éstas condiciones pueden ocasionar mutaciones perjudicando el proceso de conidiogénesis, al disminuir notablemente la producción de esporas. (Cruz, 2007)

#### 4.5.3. Beneficios de *Trichoderma sp.*

Al decir de Bustamante, (2015), Chuquimarca (2010) y Hernández & Plasencia (2013) *Trichoderma sp.*, poseen muchos beneficios al momento de su aplicación, entre otros:

- Colonizador del suelo alrededor de las raíces, vuelve los nutrientes más disponibles para la planta.



- Protege a las raíces de infecciones secundarias, ya que crece conjuntamente con las raíces durante el ciclo de vida de la planta.
- Ayuda reducir el estrés de las plantas y produce sistemas radiculares más grandes.
- Acelera la descomposición de la materia orgánica.
- Protege las semillas de fitopatógenos.
- Tiene capacidad para adaptarse a diversas condiciones de los suelos.
- Posee un amplio rango de acción.
- Promueve el crecimiento de pelos absorbentes y raíces alimenticias, mejorando la nutrición y la absorción de agua.
- No se ha registrado ningún efecto fitotóxico, a consecuencia de su aplicación.
- Puede ser aplicado en compostaje o materia orgánica en descomposición para acelerar el proceso de maduración de estos materiales, los cuales a su vez contendrán el hongo cumpliendo también función de biofungicida.
- Disminuye o elimina la dependencia de fumigantes químicos.

#### **4.5.4. Mecanismos de Acción.**

Refiriéndose a la acción bioreguladora de organismos patógenos que posee *Trichoderma sp.*, existen los siguientes mecanismos de acción:

##### **4.5.4.1. Micoparasitismo.**

Empieza con un proceso complejo de producción de enzimas líticas (quitinasas, glucanasas, celulasas, xylanases, laminarinasas, esterases, glucosidasas, lipasas y proteasas), la hifa de *Trichoderma spp.*, entra en contacto con la hifa del patógeno e inicia un crecimiento alrededor de dicha hifa, para luego degradarla (por acción enzimática); en seguida, penetra el hongo antagonista, causando degradación celular, rompimiento hifal y destrucción total de las hifas del patógeno. (Zhirvi, 2016)

##### **4.5.4.2. Antibiosis.**

El hongo posee la capacidad de producir un gran número de compuestos de importancia en la actividad bioreguladora de patógenos, tanto compuestos orgánicos volátiles como compuestos no volátiles (harzianolida, alameticina, tricolina, viridina, gliovirina, gliotoxina, 6-pentil-  $\alpha$ - pirona, isonitrina, trichodermina, suzucacilina y trichorzianina), estos últimos, cumplen un rol significativo, que inhibe el crecimiento y desarrollo de microorganismos



patógenos. Incrementa el nivel de antagonismo frente a patógenos, gracias a la combinación de enzimas líticas y antibióticos. (Zhirvi, 2016)

#### **4.5.4.3. Competencia.**

*Trichoderma spp.*, al momento que coloniza la rizosfera empieza a desarrollarse rápidamente, lo que le convierte en un fuerte competidor por espacio. Asimismo, tiene la capacidad de movilizarse y tomar nutrientes del suelo, siendo muy versátil para usar sustratos como fuente de carbono y nitrógeno, lo que le accede colonizar rápidamente, evitando la proliferación de otros microorganismos en el mismo hábitat. (Zhirvi, 2016)

El mecanismo de acción del hongo antagonista, puede ser variable y depende del hongo a controlar y del aislamiento, así como de la especie de *Trichoderma* a ser utilizada. (Guedez, Cañizales, Castillo, & Olivar, 2009)

## **4.6. QUINTOZENO (PCNB)**

### **4.6.1. Información general.**

Tiene apariencia de polvo cristalino, de color amarillo a crema, en cuanto a la solubilidad es soluble en agua (0.44mg/lit a 20 °C), tolueno (1140 mg/ml a 20 °C), metanol (20 mg/ml a 20 °C), heptano (30 mg/ml a 20 °C) y cloroformo (en parte). Se recomienda almacenar a temperatura ambiente. (Biotechnology Santa Cruz, 2016; EPA, 1987)

PCNB es un fungicida no sistémico utilizado principalmente para tratar el suelo, las semillas, las plántulas trasplantadas y el césped (EPA, 1987). Según ficha técnica, es un hidrocarburo clorado. Puede estar presente en el suelo de 4 a 10 meses, se encuentra inmóvil en el suelo y es de alta bioacumulación en organismos acuáticos. Una parte se pierde por volatilización y otra por biodegradación. Además, se considera moderadamente persistente (hasta 1 año). (Agroquimicos VERSA®, 2018)

### **4.6.2. Campo de actividad.**

Usado tanto para la desinfección de semillas y bulbos como en la de suelos. Entre los patógenos que se puede controlar están los siguientes: *Pythium sp.* (damping-off), *Colletotrichum lindemuthianum*, *Tilletia laevis*, *Tilletia caries*, *Tilletia controversa*, *Thanatephorus cucumeris*, *Fusarium sp.*, *Plasmodiophora brassicae* (hernia de las crucíferas),



*Phaeosphaeria nodorum*, *Sphaerulina oryzina*, *Athelia rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botryotinia fuckeliana*, *Botrytis sp.*, *Monographella nivalis*, *Verticillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Sclerotium sp.*, *Stromatinia cepivorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Penicillium sp.*, *Thielaviopsis*, *Magnaporthe grisea*, *Streptomyces scabiei* y *Cochliobolus sativus*, etc., en cultivos de ajo, algodón, brócoli, cacahuete, chile, col, col de bruselas, forestales, frijol, frutales, garbanzo, jitomate, ornamentales, papa, pastos, prados, soya, tomate de cáscara, viveros. (Agroquimicos VERSA®, 2018)

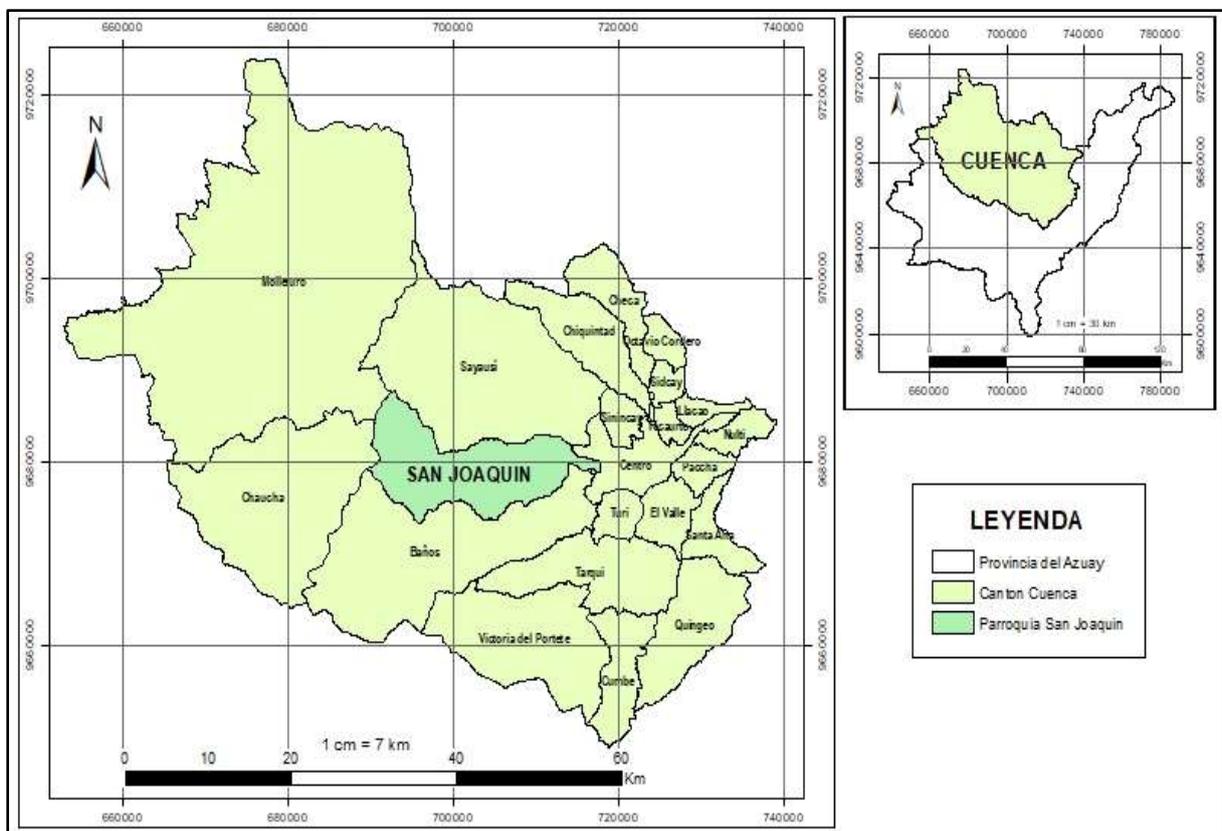
La mayoría de los estudios de mutagenicidad realizados en PCNB mencionan que no es mutagénico. Sin embargo, es necesario al momento de aplicar cubrir las áreas del cuerpo cerca del 80% ya que puede penetrar por medio de las costuras o dobladillos de la ropa. (EPA, 1987)

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Área de estudio

#### 5.1.1. Ubicación geográfica de la parroquia San Joaquín.

San Joaquín se encuentra situado a 7 km hacia el occidente de la ciudad de Cuenca y limita al Norte con la Parroquia Sayausí (río Tomebamba), al Sur con la Parroquia Baños (río Yanuncay), al Este con la ciudad de Cuenca y al Oeste con las Parroquias de Chaucha y Molleturo. Además cuenta con una población de 7455 habitantes y una superficie de 21007,61 has. (Granda, 2011)



**Figura 1.** Ubicación de la parroquia San Joaquín a nivel cantonal y provincial

Fuente: IGM



### 5.1.2. Condiciones climatológicas.

Está compuesto por dos pisos climáticos:

El piso Frío Andino (páramos) que se encuentra entre 3200 y 4340 m.s.n.m, con una temperatura promedio de 2 a 6 °C, se caracteriza por continuos aguaceros, neblinas espesas y lloviznas constantes. (Granda, 2011)

El piso climático templado interandino que esta desde 2591 hasta 3200 m.s.n.m, con una temperatura promedio entre 12 – 16 °C, vientos frecuentes en época lluviosa templada y en época seca vientos fuertes con aire seco y cálido. Las precipitaciones promedio anuales oscilan entre 850 a 1100 mm. (Granda, 2011)

### 5.1.3. Suelo y geomorfología.

Suelo con gran acumulación de materia organica debido al clima frio, húmedo y la baja presión atmosférica. La parroquia es una zona de depósitos aluviales, terrenos planos, arcillosos y adecuados para soportar una alta intensidad de producción vegetal, por lo general los suelos que son dedicados a la producción son planos, arcillo – arenosos y poco pedregosos. El 56.4% del territorio tiene una pendiente mayor al 30%, el 21.2 %, tiene una pendiente entre 16 y 30% y el 22.4% del área tiene una pendiente menor al 16 %. (Granda, 2011)

### 5.1.4. Ubicación del ensayo.

El ensayo fue situado en el sector de Balzay Bajo perteneciente a la parroquia de San Joaquín, en el terreno del Sr. Rubén Gómez.

**Tabla 1.** Coordenadas geográficas del terreno en la parroquia

Latitud (UTM)	717 801
Longitud (UTM)	9 680009
Altitud	2636.60 m s.n.m.

**Fuente:** Topografía APP, 2019

## 5.2. Materiales

Para la ejecución del ensayo se utilizaron equipos y materiales de laboratorio, entre los principales: balanza, microscopio, autoclave, incubadora, cámara de flujo, cámara de Neubauer y cristalería en general. Dentro de los materiales químicos y biológicos, se utilizó: quintozeno, PDA, agua destilada, azul de metileno, cepas de *Trichoderma harzianum* y *T. koningii*. Para la



implementación en el campo, se usó recipientes de plástico (tarrinas), sustrato (terreno infectado) y plántulas de col variedad Híbrida.

### 5.3. Metodología

#### 5.3.1. Fase de laboratorio.

##### 5.3.1.1. *Obtención de especies de Trichoderma harzianum y T. koningii, y preparación de los tratamientos.*

Se realizó trampas para *Trichoderma sp.*, que consistieron en la colocación de tarrinas dispersas a lo largo del bosque perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, estos recipientes contenían arroz pre cocido y permanecieron tapados con tela nylon y a la vez ocultas entre la cobertura para evitar que otros animales se introduzcan; luego de diez días se procedió a la identificación y a la siembra respectiva en medio PDA; cada ocho días y por cuatro veces se realizaron “repiques” de cada especie y una siembra “monosporal”, esto con el fin de purificar cada vez las cepas, las mismas que se mantuvieron a 25 °C. Para la preparación de los tratamientos, mediante el uso de la cámara de Neubauer se contabilizó la concentración de esporas de cada especie, en seguida, se realizó las disoluciones, añadiendo agua destilada hasta llegar a la concentración de las dosis deseadas; finalmente, se almacenó en recipientes esterilizados. Para el producto químico simplemente se pesó las cantidades respectivas.

#### 5.3.2. Fase de campo.

##### 5.3.2.1. *Aplicación de los tratamientos.*

Se realizó el llenado de las tarrinas plásticas con el suelo infectado, para lo cual según Tewari *et al.* (2005) se parte del hecho que suelos con niveles superiores a 1000 esporas/gramo de suelo, se los considera “ideales” para el desarrollo de la enfermedad. Para el caso del experimento se partió con una población de *Plasmodiophora* de  $5,7 \times 10^4$  esporas/gramo de suelo.

Con la ayuda de asperjadores manuales se aplicó cada uno de los tratamientos correspondientes. Cada unidad experimental tuvo un total de cinco (5) plantas de *Brassica*



*oleracea var. capitata*; siendo por lo tanto un total de 140 plantas de col las que conformaron el experimento.

### 5.3.2.2. Toma de datos.

En la presente investigación se evaluaron las siguientes variables:

- Altura de planta:

Esta variable fue medida en centímetros desde el cuello de la planta hasta el extremo apical, a los 30, 60 y 90 días después del trasplante (d.d.t.)

- Diámetro de planta:

Este dato fue tomado en centímetros entre las hojas más extremas y opuestas por su ubicación en la planta, a los 30, 60 y 90 (d.d.t.).

- Diámetro del cuello de la planta:

Esta variable se midió en centímetros a nivel del cuello, a los 30, 60 y 90 (d.d.t.).

- Número de plantas infectadas:

Este dato se registró a los 90 (d.d.t.).

- Porcentaje de afección:

Esta variable se evaluó al final de la investigación, para lo cual se empleó la escala de severidad propuesta por Sheng *et al.* (2014), (Tabla 5, Anexo 1).

**Tabla 2.** Escala de severidad de la enfermedad

Escala	Descripción
0	No hay infección
1	1 – 25% de las raíces infectadas
2	26 – 50% de las raíces infectadas
3	51 – 75% de las raíces infectadas
4	Más del 75% de las raíces infectadas

**Fuente:** Sheng *et al.*, 2014

- Número de plantas sanas:

Esta variable se evaluó a los 90 días después del trasplante.

- Peso fresco:



Para determinar esta variable se pesó todas las plantas de cada unidad experimental, a los 90 días después del trasplante (d.d.t.).

- Peso seco:

Se evaluó a los 90 d.d.t. y al final de la investigación, para lo cual, las plantas fueron secadas a 60 °C por 48 horas para posteriormente ser pesadas separando la parte radicular de la parte foliar.

#### 5.4. Transformación de datos

La exploración de datos revela la existencia de valores cero, por lo que se realizaron las transformaciones correspondientes en las variables altura, diámetro del cuello, diámetro del tallo, peso fresco y peso seco (parte radicular y foliar) recomendado por la Universidad José Carlos Mariátegui (2009).

$$X' = \sqrt{0,5 + X} \text{ (valor de cero)}$$

También en las variables de porcentaje de afección, plantas infectadas y plantas sanas, se aplicó la transformación hiperbólica inversa de X (transformación angular) apropiada cuando los datos son porcentajes:

$$P' = \arcsen \sqrt{p} \text{ (valor de porcentaje)}$$

Las transformaciones se emplearon a todas las variables y tratamientos que presentaban valores de cero y porcentaje.

#### 5.5. Análisis económico

El análisis económico se realizó evaluando los costos variables de cada uno de los tratamientos.



## 6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 6.1. Diseño experimental

Se empleó un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con cuatro repeticiones cada tratamiento.

Los tratamientos empleados fueron:

**Tabla 3.** Tratamientos en estudio

Tratamientos	Descripción
T1	<i>Trichoderma harzianum</i> , $1 \times 10^6$ ufc/cm <sup>3</sup>
T2	<i>Trichoderma harzianum</i> , $1 \times 10^8$ ufc/cm <sup>3</sup>
T3	<i>Trichoderma koningii</i> , $1 \times 10^6$ ufc/cm <sup>3</sup>
T4	<i>Trichoderma koningii</i> , $1 \times 10^8$ ufc/cm <sup>3</sup>
T5	Quintozeno, 15kg/ha
T6	Quintozeno, 30kg/ha
T7	Testigo

**Tabla 4.** Esquema del análisis de varianza.

Fuentes de Variación	Grados de libertad
Bloques	3
Tratamientos	6
Error experimental	18
Total	27

### 6.2. Analisis estadístico

Luego de las transformaciones pertinentes, se empleó las pruebas de Shapiro–Wilks y Levene que nos indican la distribución normal de los datos y la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos, respectivamente (Anexo 2, 3, 5, 6).

Primeramente, se realizó una comparación entre las dos especies de *Trichoderma* (T1, T2 y T3, T4) y el testigo, indicando que solamente las variables: diámetro del cuello (60 d.d.t.),



diámetro del tallo (30 d.d.t.) y peso seco de la raíz, cumplen con los supuestos del ADEVA, pero no presentan diferencias significativas entre los tratamientos, según el análisis de varianza (Anexo 4). Para las demás variables, se procedió con una prueba no paramétrica (Friedman). Además, para este tipo de comparaciones en grupo se utilizó contrastes ortogonales. (Reyes, 2014)

Luego, se efectuó una comparación de todos los tratamientos en estudio, donde se pudo observar que las variables: diámetro del cuello (90 d.d.t.), diámetro del tallo (60 y 90 d.d.t.), porcentaje de afección, plantas infectadas y plantas sanas no cumplen con los supuestos del ADEVA, por lo que se aplicó la prueba no paramétrica de Friedman ( $\alpha=0.05$ ). Para las variables restantes se realizó la prueba de Tukey al 5% (Anexo 7).



## 7. RESULTADOS

En forma general se estima que a los 30 d.d.t., es una etapa muy temprana del cultivo para evidenciar el efecto de los diferentes tratamientos, debido a que los síntomas de la enfermedad, aun no se manifiestan en las plántulas. Lo contrario sucede a los 60 d.d.t., donde se observa indicios del patógeno, y los tratamientos ya marcan diferencias. A los 90 d.d.t., *P. brassicae* se desarrolló en su totalidad hasta causar la muerte de plantas en algunos tratamientos, dando lugar al origen de muchos datos cero.

### 7.1. Comparación entre las dos especies de *Trichoderma*

#### 7.1.1. Altura de la planta.

Aplicando la prueba de Friedman, nos indica que existen diferencias altamente significativas  $T^2=1E30$ ,  $p<0.0001$ , para tratamientos, donde las plantas controladas con *T. koningii* alcanzaron un mayor desarrollo en comparación con *T. harzianum* (Tabla 5).

**Tabla 5.** Prueba de Friedman para la variable altura a los 30, 60 y 90 d.d.t.

Tratamiento	Suma de rangos	Promedio de Rangos	
<i>Trichoderma koningii</i>	12.00	3.00	A
<i>Trichoderma harzianum</i>	8.00	2.00	B
Testigo	4.00	1.00	C

#### 7.1.2. Diámetro del cuello de la planta.

En la tabla 6, se observa que existe diferencias significativas según Friedman  $T^2= 3.86$ ,  $p<0.05$ , a los 90 d.d.t. El testigo obtuvo un mayor diámetro ya que los abultamientos de las raíces en ciertas plantas llegaron hasta el cuello, pero si se compara entre las dos especies en estudio, las plantas lograron un menor diámetro en el cuello cuando fueron aplicadas con *T. koningii* (Tabla 6).

**Tabla 6.** Prueba de Friedman para la variable diámetro del cuello a los 90 d.d.t.

Tratamiento	Suma de rangos	Promedio de Rangos	
Testigo	11.00	2.75	A
<i>Trichoderma harzianum</i>	8.00	2.00	A B
<i>Trichoderma koningii</i>	5.00	1.25	B



### 7.1.3. Porcentaje de afección, plantas infectadas y sanas.

En la tabla 7, se observa que cuando las plantas son tratadas con *T. koningii*, muestra un menor porcentaje de afección de la enfermedad con un 8%, en cambio con *T. harzianum*, ocurrió mayor porcentaje, sin embargo, no superó al testigo que alcanzó 54%.

En cuanto a la variable plantas infectadas, hubo menor cantidad de plantas con presencia del patógeno aplicando *T. koningii*, pero cuando se aplicó *T. harzianum* solo se incrementó el 3% de plantas infectadas. Plantas sanas sucedió lo inverso a la variable anterior.

**Tabla 7.** Valores promedios (M) y desviación estándar (D.E.) de las variables porcentaje de afección, plantas infectadas y plantas sanas.

	<i>T. harzianum</i>			<i>T. koningii</i>			Testigo		
	M ± D.E.	D.		M ± D.E.	D.		M ± D.E.	D.	
		originales			originales			originales	
Porcentaje de afección	1.88 ± 2.02	11%	B	1.38 ± 1.92	8%	C	4.63 ± 0.39	54%	A
Plantas infectadas	1.93 ± 2.08	13%	B	1.47 ± 2.04	10%	C	4.83 ± 0.33	65%	A
Plantas sanas	5.15 ± 0.18	87%	B	5.18 ± 0.19	90%	A	4.14 ± 0.54	35%	C

### 7.1.4. Peso fresco de la planta.

La prueba de Friedman nos indica que hay diferencias significativas entre los tratamientos  $T^2=13.00$ ,  $p<0.05$ . Las plantas obtuvieron más peso con *T. koningii* que con *T. harzianum*, es indiscutible ya que también tenían mayor desarrollo en comparación con el testigo (Tabla 8).

**Tabla 8.** Prueba de Friedman para la variable peso fresco.

Tratamiento	Suma de rangos	Promedio de Rangos	
<i>Trichoderma koningii</i>	11.00	2.75	A
<i>Trichoderma harzianum</i>	9.00	2.25	A
Testigo	4.00	1.00	B

## 7.2. Comparación de todos los tratamientos en estudio

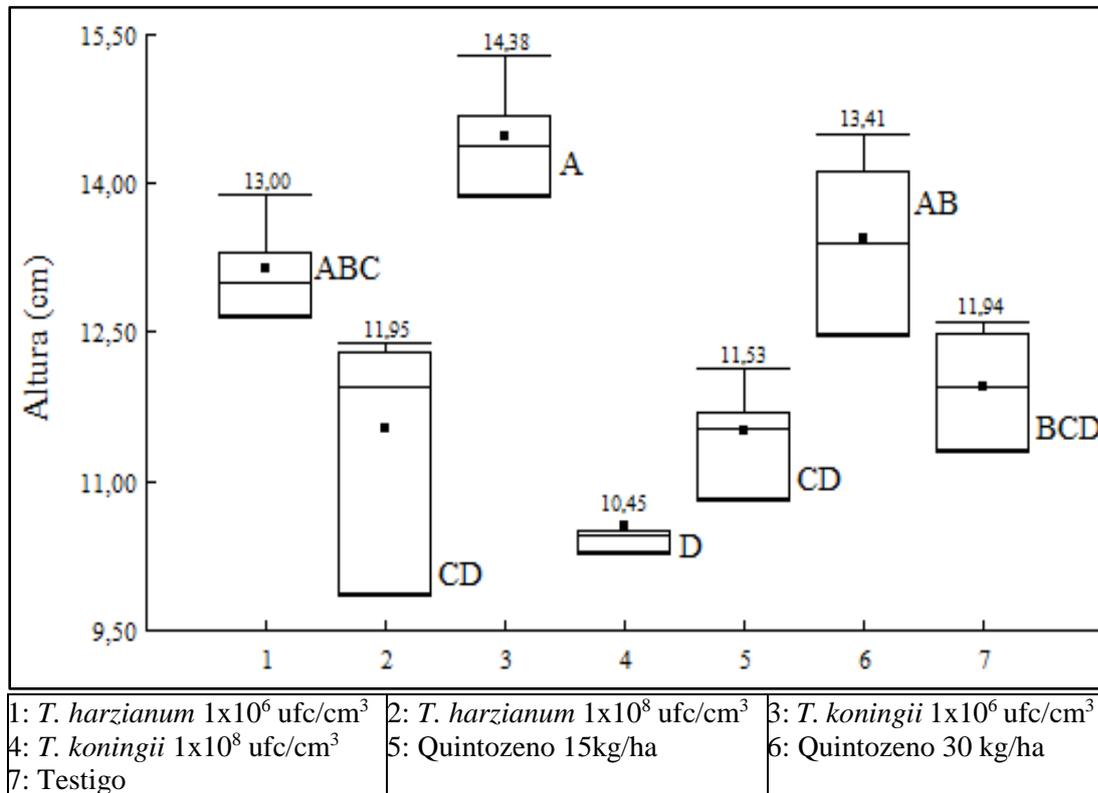
### 7.2.1. Altura de planta.

A los 30 d.d.t. el análisis de varianza (Anexo 7), presentó diferencias altamente significativas entre los tratamientos  $F(6, 18)=11.45$   $p<0.0001$  y un coeficiente de variación de 6.52%.

Las plantas del tratamiento 3 que fueron aplicadas con *T. koningii* en dosis de  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup> alcanzaron un mayor promedio en altura de 14.38 cm (DE=0.65), en comparación al



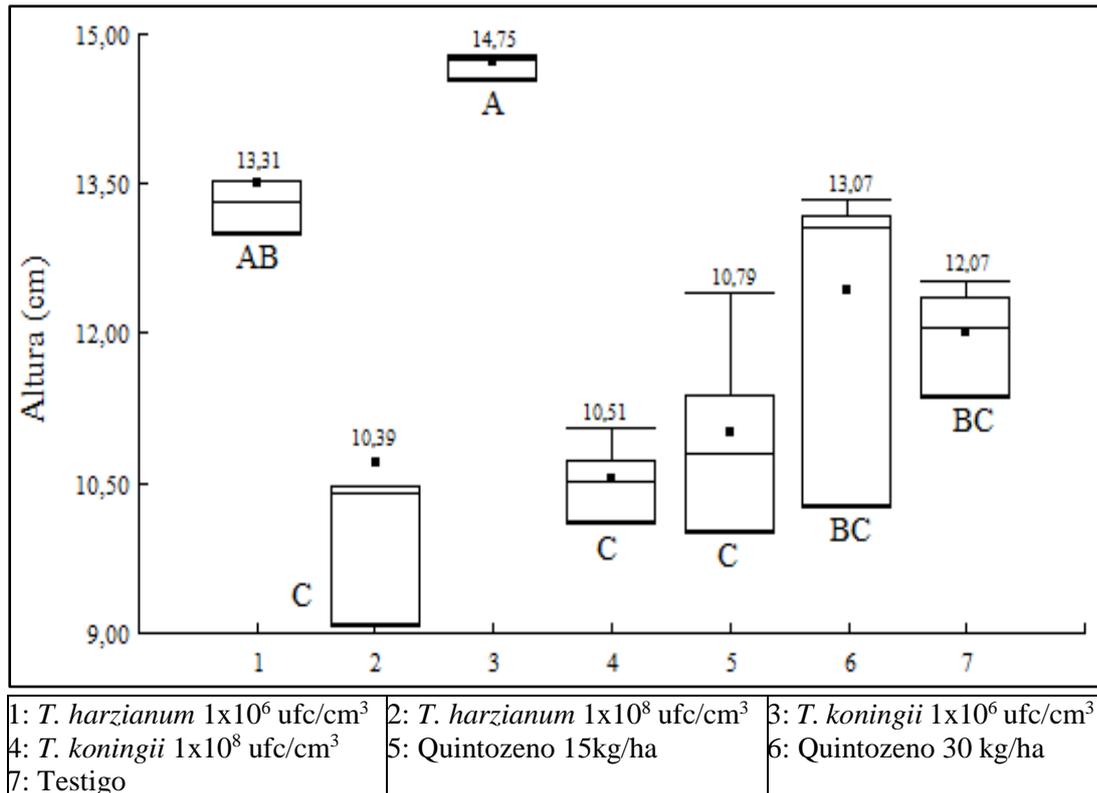
tratamiento 4 con *T. koningii* a  $1 \times 10^8$  ufc/cm<sup>3</sup> que obtuvo un menor valor de 10.45 cm (DE=0.31) (Figura 2).



**Figura 2.** Efecto de los tratamientos en la variable altura a los 30 d.d.t.

En el ADEVA a los 60 d.d.t. (Anexo 7), se observa que existe diferencias altamente significativas entre los tratamientos  $F(6, 18)=11.21$ ,  $p<0.0001$  y coeficiente de variación de 7.64%.

De igual manera, cuando las plantas fueron tratadas con *T. koningii* con una concentración baja de  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup>, las plantas presentaron una mayor altura de 14.75 cm (DE=0.12), en cambio cuando se aplicó una concentración alta de *T. koningii* ( $1 \times 10^8$  ufc/cm<sup>3</sup>), alcanzaron una altura promedio de 10.79 cm (DE=0.43) (Figura 3). Obteniendo un buen desarrollo durante los primeros meses de las plántulas.



**Figura 3.** Efecto de los tratamientos en la variable altura a los 60 d.d.t.

Comparando los datos entre los 30 y 60 d.d.t., se puede evidenciar que, en algunos tratamientos (2, 5 y 6) las medias son superiores al comienzo para luego disminuir, esto es debido a la aparición de los síntomas del patógeno en la planta (enanismo) como se había mencionado anteriormente.

En la última toma de datos, se pudo demostrar claramente los principales síntomas del patógeno en cuanto al crecimiento de la planta. El ADEVA para esta variable muestra diferencias altamente significativas  $F(6, 18)=774.02$ ,  $p<0.0001$  y un coeficiente de variación de 5.18% (Anexo 7).

En la figura 4 se puede evidenciar que hubo un mayor crecimiento cuando la enfermedad es controlada con *T. koningii* a  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup> (T3) alcanzando una media de 14.60 cm (DE=0.50), pero cuando las plantas fueron aplicadas *T. harzianum* a  $1 \times 10^8$  ufc/cm<sup>3</sup> (T2) obtuvieron un resultado inferior de 3.04 cm (DE=0.39).

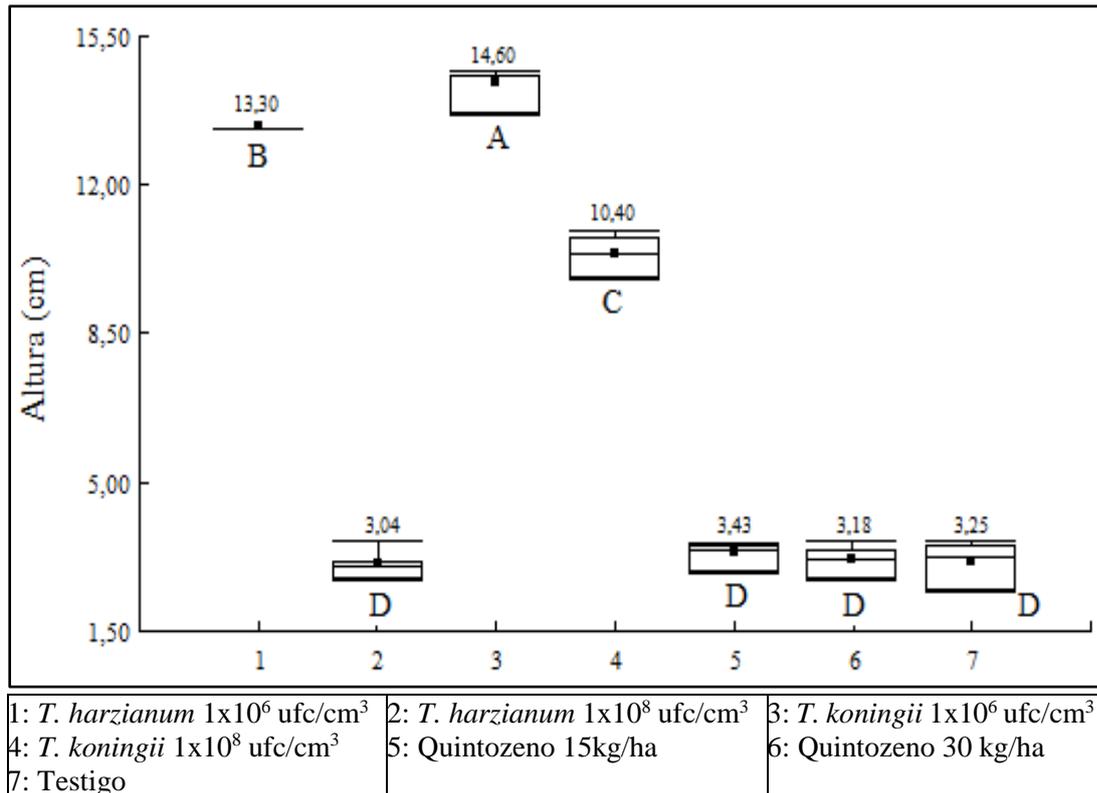


Figura 4. Efecto de los tratamientos en la variable altura a los 90 d.d.t.

### 7.2.2. Diámetro del cuello de la planta.

A los primeros 30 d.d.t., el valor de  $F(6, 18)=5.37$ ,  $p<0.05$  en el análisis de varianza revela que hay diferencias significativas entre los tratamientos, el coeficiente de variación fue de 5.19% (Anexo 7). El diámetro del cuello de la planta fue de 2.83 mm (DE=0.04) cuando se aplicó *T. koningii* a  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup> y cuando se utilizó *T. koningii* a  $1 \times 10^8$  ufc/cm<sup>3</sup> las plantas lograron un diámetro de 2.35 mm (DE=0.07), (Figura 5).

El diámetro del cuello de la planta fue incrementando conforme pasan los días. En algunos tratamientos el engrosamiento de la raíz se presentó hasta el cuello de la planta; en cambio en otros la infección se concentró únicamente en la raíz, lo que se pudo observar solo al momento de extraer la planta del sustrato. Por esta razón, hubo datos que se mantenían, disminuían o incrementaba el diámetro del cuello en comparación al diámetro del tallo, en las tres distintas fechas.

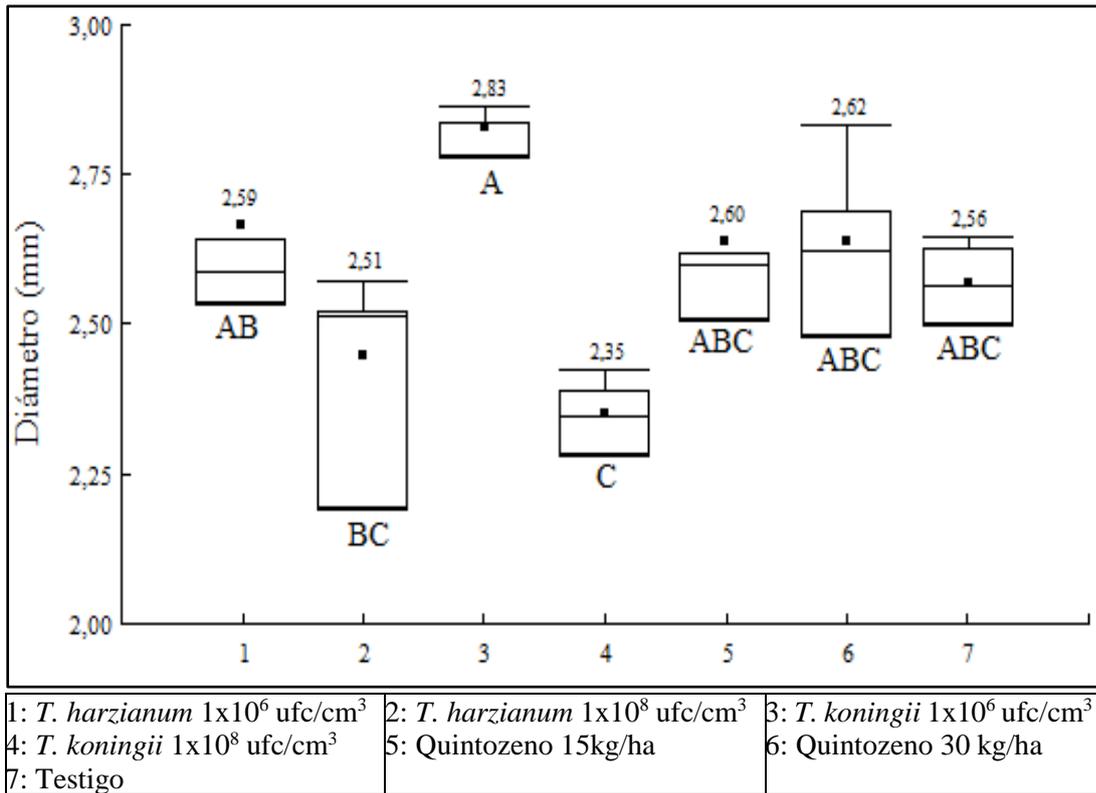


Figura 5. Efecto de los tratamientos en la variable diámetro del cuello a los 30 d.d.t.

### 7.2.3. Diámetro del tallo de la planta.

A los 60 d.d.t., la prueba de Friedman ( $\alpha=0,05$ ) empleada presentó diferencias significativas en los tratamientos  $T^2=10,18$ ,  $p<0,05$ . *T. koningii*, 1x10<sup>6</sup> ufc/cm<sup>3</sup> pudo controlar al patógeno desde etapas tempranas y alcanzó un mayor grosor del tallo, en cambio *T. koningii*, 1x10<sup>8</sup> ufc/cm<sup>3</sup> obtuvo un resultado inferior (Tabla 9).

Tabla 9. Prueba de Friedman para la variable diámetro del tallo a los 60 d.d.t.

Tratamiento	Suma de rangos	Promedio de Rangos	
<i>T. koningii</i> , 1x10 <sup>6</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	26.00	6.50	A
Quintozeno, 30 kg/ha	21.00	5.25	A B C
<i>T. harzianum</i> , 1x10 <sup>6</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	20.00	5.00	A B C
Testigo	18.00	4.50	C D
Quintozeno, 15kg/ha	15.00	3.75	D
<i>T. harzianum</i> , 1x10 <sup>8</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	6.00	1.50	D E
<i>T. koningii</i> , 1x10 <sup>8</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	6.00	1.50	E



#### 7.2.4. Porcentaje de afección, plantas infectadas y sanas.

Como se mencionó en el capítulo anterior, las variables medidas en porcentajes fueron transformadas; en cuanto a la variable porcentaje de afección, se admite una vez más que, en los tratamientos 1 y 3 no presentaban infección (*T. harzianum*,  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup> y *T. koningii*,  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup>, respectivamente) en comparación con el testigo (T7) ( $4.63 \pm 0.39$ ) que obtuvo un mayor porcentaje de afección, tomando en cuenta que alcanzó hasta el 25% de mortalidad de las plantas a causa del patógeno.

Por otro lado, está la variable de plantas infectadas, el tratamiento 7 ( $4.83 \pm 0.33$ ) presentó un resultado superior, pues aproximadamente el 70% del testigo contenía el patógeno y el 30% no presentó síntomas claros y los tratamientos 1 (*T. harzianum*,  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup>) y 3 (*T. koningii*,  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup>) no adquirieron la enfermedad.

Sucede lo inverso en la variable de plantas sanas, pues los tratamientos 1 y 3 en su totalidad conformaban plantas con ausencia de *P. brassicae*, en cambio, el testigo obtuvo menor número de plantas sanas (Tabla 10).

**Tabla 10.** Valores promedios (M) y desviación estándar (D.E.) de las variables porcentaje de afección, plantas infectadas y plantas sanas.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	<i>T. harzianum</i> , 1x10 <sup>6</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	<i>T. harzianum</i> , 1x10 <sup>8</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	<i>T. koningii</i> , 1x10 <sup>6</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	<i>T. koningii</i> , 1x10 <sup>8</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	Quintozeno 15kg/ha	Quintozeno 30kg/ha	Testigo
	M ± D.E.	M ± D.E.	M ± D.E.	M ± D.E.	M ± D.E.	M ± D.E.	M ± D.E.
Porcentaje de afección	0.00 ± 0.00	3.76 ± 0.36	0.00 ± 0.00	2.76 ± 1.88	0.92 ± 1.85	1.85 ± 2.13	4.63 ± 0.39
Plantas infectadas	0.00 ± 0.00	3.86 ± 0.35	0.00 ± 0.00	2.94 ± 1.99	0.92 ± 1.85	1.85 ± 2.13	4.83 ± 0.33
Plantas sanas	5.30 ± 0.00	5.01 ± 0.15	5.30 ± 0.00	5.06 ± 0.21	5.25 ± 0.11	5.19 ± 0.13	4.14 ± 0.54

#### 7.2.5. Peso fresco de la planta.

También, entre los tratamientos hay diferencias altamente significativas  $F(6, 18)=101.42$ ,  $p<0.0001$  y con un coeficiente de variación de 14,84% (Anexo 7).

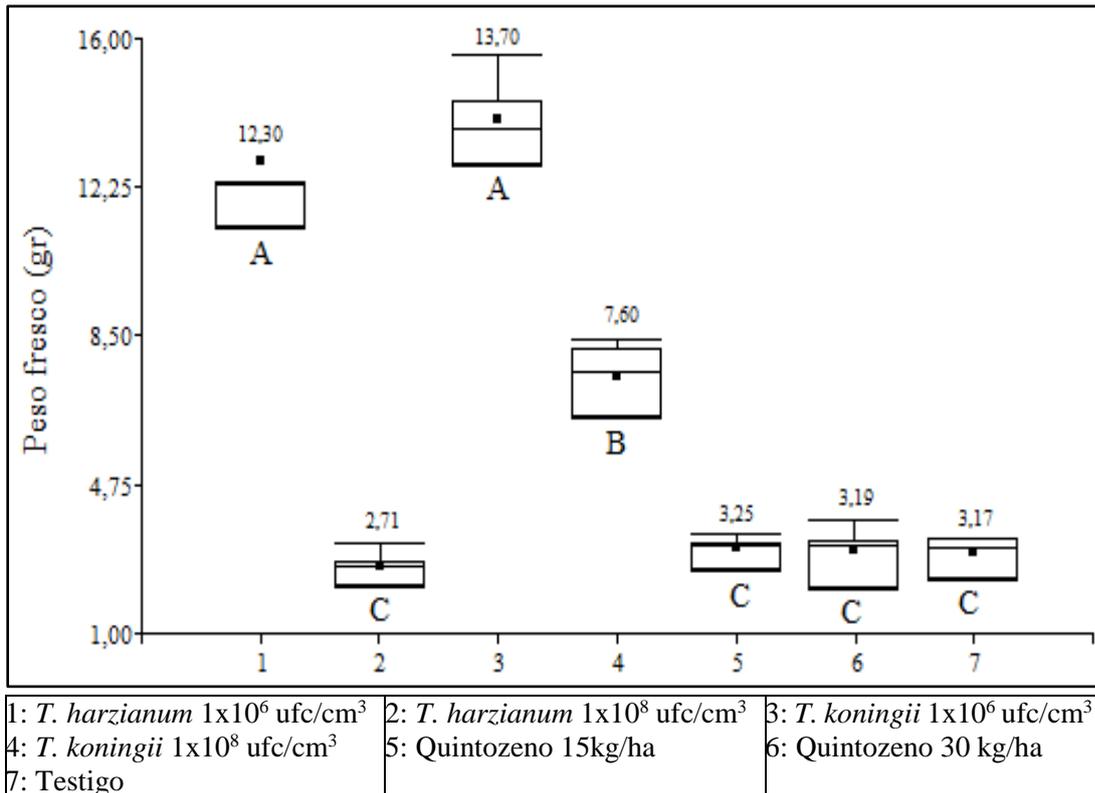


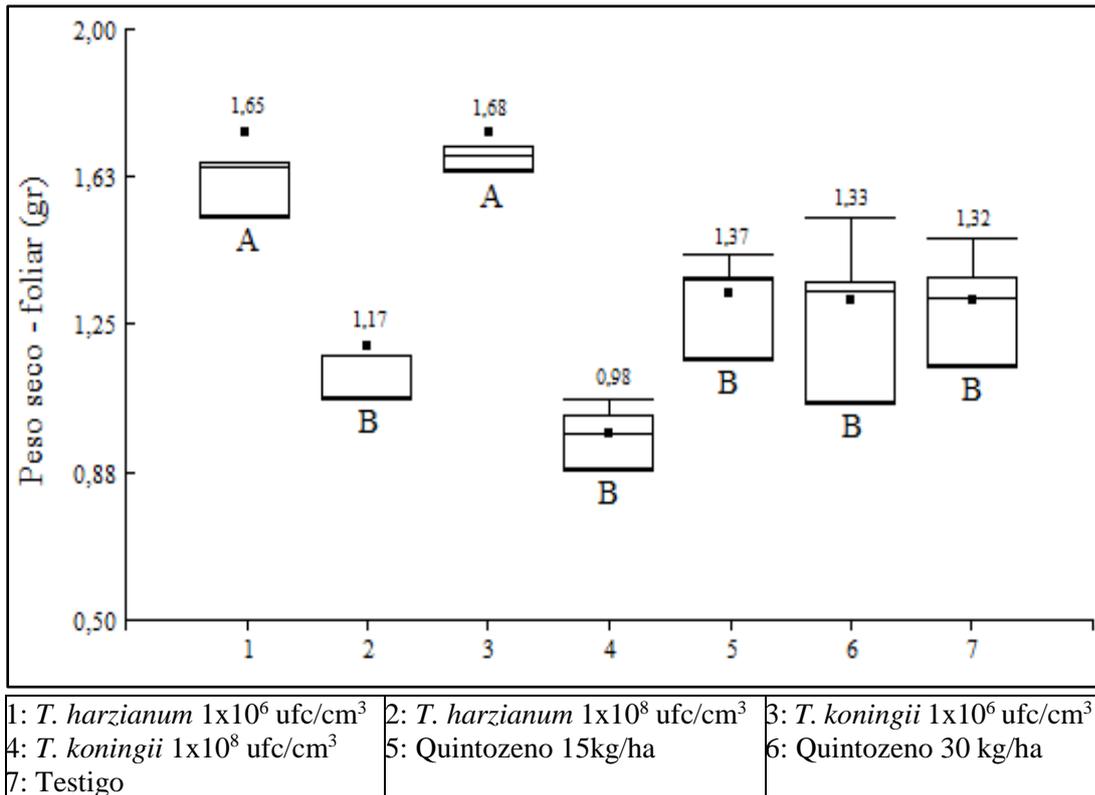
Figura 6. Efecto de los tratamientos en la variable peso fresco.

Los tratamientos 3 (*T. koningii*, 1x10<sup>6</sup> ufc/cm<sup>3</sup>) y 1 (*T. harzianum*, 1x10<sup>6</sup> ufc/cm<sup>3</sup>) resultaron con un mayor peso llegando hasta los 13,70gr (DE=1.31) y 12,30 gr (DE=2.00), en cambio el tratamiento 2 (*T. harzianum*, 1x10<sup>8</sup> ufc/cm<sup>3</sup>) llegó a pesar 2,71 gr (DE=0.46) (Figura 6).

#### 7.2.6. Peso seco de la planta (foliar).

El ADEVA, muestra diferencias altamente significativas entre los tratamiento F(6, 18)=12.81, p>0.05, su coeficiente de variación fue de 11,43% (Anexo 7).

Los tratamientos que resaltaron fue el 3 (*T. koningii*, 1x10<sup>6</sup> ufc/cm<sup>3</sup>) y 1 (*T. harzianum*, 1x10<sup>6</sup> ufc/cm<sup>3</sup>) ambos con 1.74 gr (DE=0.15; DE=0.27), y el tratamiento 4 (*T. koningii*, 1x10<sup>8</sup> ufc/cm<sup>3</sup>) el cual alcanzo un peso seco mínimo de 0.97 gr (DE=0.08) (Figura 7).



**Figura 7.** Efecto de los tratamientos en la variable peso seco (foliar).

Es importante recalcar que las variables de peso de la planta se vio afectado por algunas razones, entre estas la defoliación natural en el manipuleo de las plantas durante la toma de datos y principalmente la presencia de los síntomas de *P. brassicae* (hojas débiles).

### 7.3. Análisis económico

Se realizó el análisis económico de los tratamientos estudiados, tomando en cuenta solo los costos variables y calculando para 1 hectárea de superficie, resultado que el tratamiento más costoso fue el empleo de Quintozeno con 30kg/ha (T6) ocupando \$3209.33 y los tratamientos más económicos son a base de *Trichoderma spp.*, para obtener mejores resultados, pues no hay diferencia en dosis o especie ya que tienen el mismo proceso de obtención (Tabla 11).

**Tabla 11.** Análisis económico de costos variables de todos los tratamientos evaluados para 1 ha.

	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>
	<i>T. harzianum</i> , 1x10 <sup>6</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	<i>T. harzianum</i> , 1x10 <sup>8</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	<i>T. koningii</i> , 1x10 <sup>6</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	<i>T. koningii</i> , 1x10 <sup>8</sup> ufc/cm <sup>3</sup>	Quintozeno, 15kg/ha	Quintozeno, 30kg/ha	Testigo
<b>COSTOS DIRECTOS</b>							
Plántulas	833.33	833.33	833.33	833.33	833.33	833.33	833.33
<i>T. harzianum</i>	20.30	20.30	-	-	-	-	-
<i>T. koningii</i>	-	-	20.30	20.30	-	-	-
PCNB	-	-	-	-	390.00	780.00	-
<b>COSTOS INDIRECTOS</b>							
Arriendo del sitio	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00
SUBTOTAL	1053.63	1053.63	1053.63	1053.63	1423.33	1813.33	1033.33
Imprevistos 20%	210.73	210.73	210.73	210.73	284.67	362.67	206.67
<b>TOTAL (\$)</b>	<b>2297.69</b>	<b>2297.69</b>	<b>2297.69</b>	<b>2297.69</b>	<b>2741.33</b>	<b>3209.33</b>	<b>2273.33</b>

Fuente: Elaboración propia.



## 8. DISCUSIÓN

Respecto a los tratamientos aplicados con *Trichoderma koningii*, en los resultados del experimento tuvo mayor eficiencia en casi todas las variables estudiadas ya que presentó un efecto directo en el crecimiento de la planta aplicando la dosis de  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup> (T3), el cual permitió que la planta llegue a medir hasta 14,39 cm, por lo que se infiere que *T. koningii* influyó en el crecimiento vegetativo del cultivo, resultado que coincide con el obtenido por Hernández et al. (2011) quienes manifiestan que *Trichoderma* acelera el crecimiento de los tejidos meristemáticos primarios, los mismos que ayudan en el aumento de la altura, volumen y peso de la planta. Pero cuando se usa una dosis más alta (T2, *Trichoderma harzianum*,  $1 \times 10^8$  ufc/cm<sup>3</sup>) se observa una disminución en el desarrollo de las plantas, lo cual podría ser ocasionado por fitotoxinas que producen algunas cepas de *Trichoderma spp* (Harman, 2006).

También la reducción de crecimiento puede haber sido causada por los diferentes métodos de aplicación de los agentes de biocontrol. Bell, Stewart, & Rowarth, (2000) realizan un ensayo en el cual las plantas fueron sumergidas en suspensiones de esporas de *Trichoderma spp.* antes de ser plantadas, mientras que, en el presente ensayo, las plántulas se trasplantaron en el suelo en el que se había incorporado los tratamientos. Este último método significaba que los sistemas radiculares de las plantas estaban en contacto más prolongado con los agentes de biocontrol, lo que podría haber afectado negativamente al crecimiento de las plantas.

La aplicación de *T. koningii* como agente de control biológico en el suelo debe ser favorecida con el porcentaje de contenido de agua del suelo, de medio a alto; hay un mayor crecimiento del antagonista con la lluvia o el riego (Wakelin, Sivasithamparam, Cole, & Skipp, 2010).

*T. harzianum* con  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup> y *T. koningii* con  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup> lograron controlar la severidad de la enfermedad hasta un 100% además se incrementó el peso de las plantas frente al testigo, lo que difiere con Cheah, Veerakone, & Kent, (2000) que aislaron tres cepas de *Trichoderma spp.*, (TC32, TC45 y TC63 fue de  $3 \times 10^7$ ,  $8 \times 10^7$  y  $6 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup> respectivamente) que redujeron significativamente la severidad de la enfermedad pero no incrementaron el peso de la parte superior en comparación con el control. En relación con el efecto de *T. harzianum* para reducir la incidencia de *P. brassicae*, se presume que actúa por competencia, junto a un sistema adecuado del manejo del cultivo combinando con medidas culturales/agronómicas (rotación de cultivos y la enmienda del suelo (encalado) asociado con fungicidas químicos en



la dosis comercial más baja, lo que ayudarían a reducir la carga de patógenos en el suelo o su potencial de infección (García et al., 2006).

Otros autores aplicaron *Trichoderma spp.*, para controlar *P. brassicae* y alcanzaron a disminuir la incidencia de la hernia en el cultivo de col china variedad “Pack Choi”, donde el 20% de las plantas fueron afectadas por la enfermedad con una alta intensidad, pero la parte aérea perdió su valor por la reducción en el tamaño (García et al., 2006).

Por otro lado, si no se dispone de alguna alternativa para el control de *P. brassicae*, sería casi imposible producir col en las condiciones edafoclimáticas de la zona, debido a que se obtuvo un bajo porcentaje de plantas sanas presentes en el testigo (35%), lo cual ratifica los criterios de varios autores sobre los daños que este patógeno produce en las crucíferas en diversas regiones del mundo, causando entre un 70 a 80% de pérdidas en rendimiento (Orozco, 2015).

En cuanto al peso de la raíz, esta variable no fue significativa pues el tratamiento 4 (*T. koningii*,  $1 \times 10^8$  ufc/cm<sup>3</sup>) obtuvo un resultado inferior (1,13 gr), lo cual confirma los resultados obtenidos por Dos Santos, Brasil, Pereira, Soares, & Ferreira, (2017) que evaluaron la eficiencia del encalado combinado con un biofungicida a base de *Trichoderma spp.* en diferentes dosis y en condiciones controladas (invernadero) y a campo abierto, cuando se usó el biofungicida no fue posible controlar la enfermedad, ya que también redujo el desarrollo de la raíz del vegetal, pero el aumento de la dosis de piedra caliza (encalado) condujo a incrementar significativamente el volumen de la raíz sana, el peso fresco y el peso seco de la raíz, este efecto se debió probablemente al aumento del pH, la neutralización de  $Al^{+3}$  y el aumento de la disponibilidad de  $CA^{+2}$  en el suelo, favoreciendo el desarrollo de raíces sanas y una reducción de las raíces infectadas. La baja eficiencia del biofungicida se debe a diferentes factores, tanto a las condiciones ambientales como a la microflora del suelo, también a la densidad y viabilidad de las esporas de patógenos.

Una vez más, el tratamiento 3 adquirió un mayor peso seco de la parte aérea (1,74 gr) esta variable está estrechamente relacionada con la altura, esto coincide con un trabajo de biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de *Capsicum annuum* L. con *T. harzianum*, realizado por Ezziyyani, Pérez, Sid, Requena, & Candela, (2004) quienes manifiestan que el peso seco de las plántulas crecidas a partir de semillas tratadas con *T. harzianum* se incrementa significativamente y hasta morfológicamente habían presentado un color más verde en comparación con el testigo, las comunidades microbianas asociadas a la rizosfera, la especie



de la plántula, tipo de sustrato y prácticas culturales influyen en el incremento y el cambio fisiomorfológico de las plántulas.

También el tiempo de aplicación es un papel fundamental cuando se trata de agentes biocontroladores, pues Peng et al., (2011) aplicaron los tratamientos antes del patógeno y este momento probablemente les permitió alcanzar el máximo potencial de eficacia ya que podían ocupar la superficie de las raíces o los pelos radiculares antes de el patógeno. En cambio, también experimentaron empleando los tratamientos a suelos naturalmente infestados 7 días después de la siembra para apuntar al mismo tiempo de producción de zoosporas e infección, sin embargo, este método fue menos eficaz que las aplicaciones antes de la inoculación de patógenos para todos los productos, incluyendo los fungicidas.

El control químico, tiende a presentar resultados más estables; sin embargo, el uso del mismo principio activo en el control de un fitopatógeno con el tiempo puede resultar pérdida de eficiencia a medio y largo plazo. Además, el uso excesivo puede conducir a problemas de contaminación humana y ambiental, además de la presencia de residuos en los alimentos (Soares, 2010).

Metcalf, (1997) menciona en su trabajo que si la raíz de la planta tiene estrés por falta de humedad o falta de nutrición, las hifas de *T. koningii* crecen y degradan los tejidos dañados de la raíz, produciendo clamidosporas dentro de los tejidos y conidios en la superficie de la raíz. Así mismo, expresan que cuando las proteínas de *T. koningii* no son capaces de juntarse a los tejidos de la planta, podría ser por la falta de patogenicidad hacia el hongo fitopatógeno.

El producto químico en la mayoría variables estudiadas se mantuvo en los últimos rangos estadísticos, pues su control no fue eficiente en comparación con los demás tratamientos (exceptuando el testigo), lo que certifica Pichardo, (1988) que evaluó este mismo producto químico para el control de *Rhizoctonia solani* Kuhn en *Phaseolus vulgaris* L., donde la dosis de 3,63 kg/ha controló la severidad de la enfermedad en un 92%; en tanto que sucedió lo contrario con el peso seco de raíces y el peso seco de planta los cuales disminuyeron cuando se usó una dosis más alta (11,36 kg/ha). La mezcla de Carboxin–Tiram + PCNB, ayuda a inhibir el desarrollo de colonias de *Rhizopus sp*, debido a su alta frecuencia sobre semillas de *Arachis hypogaea* L (Maní) mejora significativamente la emergencia total de plántulas respecto al testigo, mayor número de plantas en el campo y a la vez hay un efecto positivo sobre el rendimiento del cultivo. (Cavallo, Novo, & Pérez, 2005)



## 9. CONCLUSIONES

- Comparando las dos especies usadas como hongos antagonicos pues la aplicación de *T. koningii* favoreció al crecimiento, desarrollo radicular, mayor diámetro de tallo, peso fresco de la planta y sobre todo se pudo controlar hasta el 100% de afección de la enfermedad, por lo mismo hubo mayor cantidad de plantas sanas. Siendo la mejor concentración  $1 \times 10^6$  ufc/cm<sup>3</sup>.
- Usando quintozeno en una dosis baja, hubo un mayor control de la severidad de la enfermedad, que cuando se aplicó el producto químico en una dosis alta (30 kg/ha).
- Quintozeno aplicando a 30kg/ha, solamente logró un mayor peso seco de la planta (sin raíz), además de ser el tratamiento más costoso; y los más económicos son los que contienen *Trichoderma spp.*
- El testigo y el tratamiento aplicado con *T. harzianum* a  $1 \times 10^8$  ufc/cm<sup>3</sup> obtuvieron resultados inferiores para todas las variables significativas.



## 10. RECOMENDACIONES

- Reproducir cepas de *Trichoderma spp.* separadas.
- Realizar nuevos estudios con inóculos de *Trichoderma koningii* en las semillas.
- Estudiar las fitotoxinas que inhiben el desarrollo de *Trichoderma spp.*
- Usar los mejores resultados de este estudio en conjunto con la rotación de cultivos y enmiendas del suelo.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Adanza, A. (2017). *Diseño de una planta de refinado para la eliminación de ácidos grasos y fosfolípidos en el aceite de colza*. Universidad de Cádiz. Retrieved from <https://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/19489/924269.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Agrios, G. N. (2005). *Introducción a la fitopatología* (5ta ed.). Mexico: Limusa S.A. Retrieved from <https://infoagronomo.net/fitopatologia-gn-agrios-pdf/>
- Agroquímicos VERSA®. (2018). Kilon® (Quintozeno + Thiram). Retrieved from [http://www.grupoversa.com/FICHAS\\_TECNICAS/FUNGICIDAS/Kilotón 30-30 FW.pdf](http://www.grupoversa.com/FICHAS_TECNICAS/FUNGICIDAS/Kilotón 30-30 FW.pdf)
- Almachi, V. E. (2013). *Evaluación de dos híbridos de Brocoli (Brassica oleracea var. italica) a Métodos Alternativos, aplicados a dos dosis, para el control de Hernia de la col (Plasmodiophora brassicae Wor), en la Hacienda Limache - Mulalo - Cotopaxi*. Universidad Técnica de Cotopaxi. Retrieved from <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2575/1/T-UTC-00112.pdf>
- Araujo, E. G. (2014). *Caracterización y evaluación de la asociación y rotación de policultivos de maíz y hortalizas en la parroquia de San Joaquín de la provincia del Azuay*. Universidad Politécnica Salesiana. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7219/1/UPS-CT004086.pdf>
- Arenales, R. A. (2017). *Evaluación de cuatro frecuencias de aplicación de Cyazofamida para el control de la hernia de las crucíferas por Plasmodiophora brassicae, en el cultivo de brocoli (Brassica oleracea var. italica), Patzun, Chimaltenango, diagnóstico y servicios realizados*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Retrieved from [http://www.repositorio.usac.edu.gt/8329/1/ROBERTO\\_ANTONIO\\_ARENAL\\_BARRERA.pdf](http://www.repositorio.usac.edu.gt/8329/1/ROBERTO_ANTONIO_ARENAL_BARRERA.pdf)
- Ayers, G. W. (2011). Studies on the life history of the club root organism, Plasmodiophora brassicae. *Canadian Journal of Research*, 4, 143–149. <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/cjr44c-012>
- Balaguera, E. A., Beleño, S. G., & Wiest, M. C. (2015). Plasmodiophora brassicae como agente patógeno, 15. Retrieved from



[https://www.academia.edu/24266820/PLASMODIOPHO\\_RA\\_BRASSICAE\\_COMO\\_AGENTE\\_PATOGENO\\_FITOPATOLOGIA\\_UNIVERSIDAD\\_PEDAGOGICA\\_Y\\_TECNOLOGICA\\_DE\\_COLOMBIA\\_FACULTAD\\_DE\\_CIENCIAS\\_AGROPECUARIAS\\_INGENIERIA\\_AGRONOMICA\\_TUNJA\\_2015](https://www.academia.edu/24266820/PLASMODIOPHO_RA_BRASSICAE_COMO_AGENTE_PATOGENO_FITOPATOLOGIA_UNIVERSIDAD_PEDAGOGICA_Y_TECNOLOGICA_DE_COLOMBIA_FACULTAD_DE_CIENCIAS_AGROPECUARIAS_INGENIERIA_AGRONOMICA_TUNJA_2015)

- Bell, J. V., Stewart, A., & Rowarth, J. S. (2000). Application method and growing medium affects the response of cucumber seedlings to inoculation with *Trichoderma harzianum*. *Australasian Plant Pathology*, 29, 15–16. Retrieved from <https://link.springer.com/article/10.1071/AP00002>
- Biotechnology Santa Cruz. (2016). Pentachloronitrobenzene (CAS 82-68-8). Retrieved from <https://www.scbt.com/scbt/es/product/pentachloronitrobenzene-82-68-8>
- Bustamante, A. E. (2015). *Control biológico del tizón tardío *Phytophthora infestans* en papa *Solanum tuberosum* a través de consorcios microbianos formados por hongos nativos del género *Trichoderma* sp.* Universidad Politécnica Salesiana. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7692/1/UPS-CT004553.pdf>
- Cavallo, A. R., Novo, R. J., & Pérez, M. A. (2005). Eficiencia de fungicidas en el control de la flora fúngica transportada por semillas de maní (*Arachis hypogaea* L.) en la Argentina. *AGRISCIENTIA*, 22(1), 9–16. Retrieved from <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/agris/article/download/2674/1902>
- Cedeño, L., Dominguez, I., Briceño, A., Pino, H., & Quintero, K. (2006). *Hernia de la col (*Plasmodiophora brassicae*)*. Venezuela. Retrieved from <http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/18590/articulo3.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Cheah, L. H., Veerakone, S., & Kent, G. (2000). Biological control of clubroot on cauliflower with *Trichoderma* and *Streptomyces* spp. *New Zealand Plant Protection*, 53, 18–21. Retrieved from [https://www.nzpps.org/journal/53/nzpp\\_530180.pdf](https://www.nzpps.org/journal/53/nzpp_530180.pdf)
- Chuquimarca, I. M. (2010). *Evaluación en el laboratorio del comportamiento de cuatro fungicidas para el control de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Desmazieres y Montagne) en tomate de árbol (*Solanum betaceum*)*. Universidad de Cuenca. Retrieved from <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3039/1/tag286.pdf>
- Contreras, H., Macías, L., Del Val, E., & Larsen, J. (2016). Ecological functions of



- Trichoderma spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 92, 17. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw036>
- Cruz, L. C. (2007). *Estandarizacion del proceso de produccion masiva del hongo Trichoderma koningii Th003 mediante fermentacion bifasica a escala piloto*. Universidad Pontificia Javeriana. Retrieved from <https://docplayer.es/9525829-Trichoderma-koningii-th003-mediante-fermentacion-bifasica-a.html>
- Dixon, G. R. (2009). The occurrence and economic impact of *Plasmodiophora brassicae* and clubroot disease. *Plant Growth Regulation*, 28(3), 194–202. Retrieved from [http://centaur.reading.ac.uk/66431/1/J Plant Growth Regulation DIXON Occurrence and Economic Impact Pb and Clubroot.pdf](http://centaur.reading.ac.uk/66431/1/J%20Plant%20Growth%20Regulation%20DIXON%20Occurrence%20and%20Economic%20Impact%20Pb%20and%20Clubroot.pdf)
- Dos Santos, C., Brasil, N., Pereira, E., Soares, C., & Ferreira, G. (2017). Liming and biofungicide for the control of clubroot in cauliflower. *Pesq. Agropec. Trop*, 47, 303–311. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/320627981\\_Liming\\_and\\_biofungicide\\_for\\_the\\_control\\_of\\_clubroot\\_in\\_cauliflower1](https://www.researchgate.net/publication/320627981_Liming_and_biofungicide_for_the_control_of_clubroot_in_cauliflower1)
- EPA. (1987). *Guidance for the registration of pesticide products containing PCNB as the active ingredient*. Washigton DC. Retrieved from <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/91012X8W.PDF?Dockey=91012X8W.PDF>
- Ezziyyani, M., Pérez, C., Sid, A., Requena, M. E., & Candela, M. E. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología*, 26, 35–45. Retrieved from <https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/26/PDF/05-TRICHODERMA.pdf>
- FAO. (2009). *La horticultura y la fruticultura en el ecuador.-*. Retrieved from <https://studylib.es/doc/346142/la-horticultura-y-la-fruticultura-en-el-ecuador>
- Fernández, R. de J. (2007). *Manejo del cultivo de brócoli (Brassica oleracea Var. Itálica) en la empresa Alimentos Congelados, S.A. (ALCOSA) en el departamento Jalapa, Guatemala*. Univesidad San Carlos de Guatemala. Retrieved from [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01\\_2363.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2363.pdf)
- García, M. J. (2018). *Análisis de la relación existente entre la presencia de residuos de plaguicidas en hortalizas cultivadas en la parroquia San Joaquín, con la inactividad de*



- la vitamina A, mediante análisis HPLC de la concentración de provitamina A.* Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15375/4/UPS-CT007563.pdf>
- García, R., Riera, R., Zambrano, C., & Gutiérrez, L. (2006, June). Desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa del hongo *Trichoderma harzianum* proveniente de la región andina venezolana. *Fitosanidad*, 115–121. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209116102005.pdf>
- Granda, V. P. (2011, December). Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial de la parroquia de San Joaquín. *Ilustre Municipalidad de Cuenca*, 156. Retrieved from <https://www.yumpu.com/xx/document/read/5541838/pdot-san-joaquin-gad-san-joaquin>
- Guamán, J. A., & Tacuri, M. P. (2014). *Estudio de la demanda de productos hortícolas en los hogares de la ciudad de Cuenca y su relación con la producción de la parroquia San Joaquín Bajo*. Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7040/1/UPS-CT003745.pdf>
- Guambo, M. F. (2010). *Estudio bioagronómico de 20 cultivares de col (Brassica oleracea L. var. capitata), ESPOCH, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo*. Retrieved from <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/647/1/13T0670.pdf>
- Guedez, C., Cañizales, L., Castillo, C., & Olivares, R. (2009, April). Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria* spp). *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 34–38. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/1994/199416353007.pdf>
- Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190–194. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>
- Hernández, C. F., & Plasencia, J. L. (2013). *Biocontrol del mal de semillero, enfermedad causada por los hongos Pythium sp. y Phytophthora sp. en tomate de árbol (Solanum betaceum) empleando hongos antagonistas del género Trichoderma sp a nivel de semilleros*. Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3725/1/UPS-CT002576.pdf>
- Hernández, J. L., Sánchez, M. I., García, J. G., Mayek, N., González, J. M., & Quiroz, J. di C. (2011). Caracterización molecular y agronómica de aislados de *Trichoderma* spp nativos



- del noreste de México. *Revista Colombiana Biotecnológica*, 13(2), 176–185. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v13n2/v13n2a17.pdf>
- Hwang, S. F., Ahmed, H. U., Strelkov, S. E., Zhou, Q., Gossen, B. D., McDonald, M. R., ... Turnbull, G. D. (2017). Suppression of clubroot by dazomet fumigant. *Canadian Journal of Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.1139/CJPS-2017-0099>
- INEC, MAG, & SICA. (2001). *III CENSO NACIONAL AGROPECUARIO*. Retrieved from [http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/CNA/Tomo\\_CNA.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/CNA/Tomo_CNA.pdf)
- Kageyama, K., & Asano, T. (2009). Life cycle of *Plasmodiophora brassicae*. *Plant Growth Regulation*, 28, 203–211. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9101-z>
- Labrador, M., Del Pozo, E., & Garcia, I. (2013). Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Plasmodiophora brassicae* Woronin, en brócoli, en la localidad de Escagüey, municipio Rangel, estado Mérida, 40(2), 39–44. Retrieved from [http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V40-Numero\\_2/cag082131913.pdf](http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V40-Numero_2/cag082131913.pdf)
- León, C. D. (2015). *Efecto de tres dosis de Trichoderma en la producción primaria del Medicago sativa (Alfalfa) en la granja Guaslan MAGAP*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Lozada, G. (2011). *Propuesta para el manejo postcosecha de hortalizas que se cultivan en la parroquia San Joaquín del cantón Cuenca*. Universidad de Cuenca. Retrieved from <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/3089>
- Metcalf, A. (1997). *Biological control of Sclerotium cepivorum Berk. (Onion White Root Rot) using Trichoderma koningii Oudem*. University of Tasmania. Retrieved from [https://eprints.utas.edu.au/20887/1/whole\\_MetcalfDeanAndrew1998\\_thesis.pdf](https://eprints.utas.edu.au/20887/1/whole_MetcalfDeanAndrew1998_thesis.pdf)
- Orozco, C. M. (2015). *Evaluación de productos ecológicos para el control de la hernia de las crucíferas (Plasmodiophora brassicae) en el cultivo de brócoli (Brassica oleracea Var. Avenger), en la parroquia Izamba provincia de Tungurahua*. Universidad Técnica de Ambato. Retrieved from [http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27610/1/Tesis-192 IngenierÍA Agronómica -CD 571.pdf](http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27610/1/Tesis-192%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-%20CD%20571.pdf)



- Peng, G., Mcgregor, L., Lahlali, R., Gossen, B. D., Hwang, S. F., & Adhikari, K. K. (2011). Potential biological control of clubroot on canola and crucifer vegetable crops. *Plant Pathology*, 60, 566–574. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02400.x>
- Pichardo, S. (1988). *Evaluación de pentacloronitrobenzoceno (PCNB) en el control de la pudrición radicular causada por Rhizoctonia solani Kuhn en frijol común (Phaseolus vulgaris L)*. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias. Retrieved from <http://repositorio.una.edu.ni/2611/1/tnh20p592.pdf>
- Rea, F. D. (2012). *Respuesta del cultivo de col (Brassica oleracea) a la aplicación de tres tipos de abonadura orgánica en la zona de Otavalo, provincia de Imbabura*. Universidad Técnica de Babahoyo. Retrieved from <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/49000/974/1/T-UTB-FACIAG-AGR-000180.pdf>
- Reigart, R., & Roberts, J. (1999). Fungicidas. In *Reconocimiento y Manejo de los Envenenamientos por Pesticidas* (Quinta Edición, pp. 152–171). EPA. Retrieved from [https://espanol.epa.gov/sites/production-es/files/2018-07/documents/reconocimiento\\_y\\_manejo\\_de\\_los\\_envenenamientos\\_por\\_pesticidas-\\_quinta\\_edicion.pdf](https://espanol.epa.gov/sites/production-es/files/2018-07/documents/reconocimiento_y_manejo_de_los_envenenamientos_por_pesticidas-_quinta_edicion.pdf)
- Rengifo, R. E. (2013). *Utilización de humus y tres concentraciones de gallinaza y su efecto en el rendimiento del col repollo (Brassica oleracea L.) Var. Tropical Delight en bolsas de polietileno en Iquitos - Perú*. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Retrieved from <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/1885/T-631.422-R41.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Reyes, L. M. (2014). *Análisis de contrastes ortogonales con InfoStat*. Guatemala. Retrieved from <http://reyesestadistica.blogspot.com/2014/05/analisis-de-contrastes-ortogonales-con.html>
- Salcedo, F. T. (2016). *Evaluación de la resistencia de cuatro variedades de brócoli a Plasmodiophora brassicae Woronin*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/5740/1/13T0837.pdf>
- Sheng, J., Sae, J., Woobong, C., & Byung, S. (2014). Antifungal activity of Paenibacillus kribbensis strain T-9 isolated from soils against several plant pathogenic fungi. *Plant Pathology*, 30(1), 102–108. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.05.2013.0052>



- Sivila, N., & Alvarez, S. (2013). *Produccion artesanal y control de calidad del hongo antagonista Trichoderma*. Universidad Nacional de Jujuy. Retrieved from [http://www.academia.edu/11343364/Producción\\_Artesanal\\_y\\_Control\\_de\\_Calidad\\_del\\_hongo\\_antagonista\\_Trichoderma](http://www.academia.edu/11343364/Producción_Artesanal_y_Control_de_Calidad_del_hongo_antagonista_Trichoderma)
- Soares, W. (2010). *Uso dos agrotóxicos e seus impactos à saúde e ao ambiente: uma avaliação integrada entre a economia, a saúde pública, a ecologia e a agricultura*. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca. Retrieved from <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/2589>
- Strelkov, S. E., Manolii, V. P., Cao, T., Xue, S., & Hwang, S. F. (2007). Pathotype classification of *Plasmodiophora brassicae* and its occurrence in *Brassica napus* in Alberta, Canada. *Phytopathology*, 155, 706–712. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01303.x>
- Tamayo, P. J. (2006). Enfermedades bióticas. In *El Cultivo de las Crucíferas* (4ta ed., p. 176). Colombia: Litomadrid. Retrieved from <https://es.scribd.com/doc/167807362/El-Cultivo-Cruciferas>
- TERRALIA. (n.d.). Quintozeno 75%. Retrieved from [https://www.terralia.com/agroquimicos\\_de\\_mexico/view\\_composition?book\\_id=3&composition\\_id=13624](https://www.terralia.com/agroquimicos_de_mexico/view_composition?book_id=3&composition_id=13624)
- Tewari, J. P., Strelkov, S. E., Orchard, D., Hartman, M., Lange, R. M., & Turkington, T. K. (2005). *Identification of clubroot of crucifers on canola (Brassica napus) in Alberta*. <https://doi.org/10.1080/07060660509507206>
- Universidad José Carlos Mariátegui. (2009). *EXPERIMENTACIÓN AGRÍCOLA*. Moquegua - Perú: Universidad José Carlos Mariátegui. Retrieved from <https://docs.google.com/viewer?a=v&pid=sites&srcid=ZGVmYXVsdGRvbWFpbX2aW5pY2lvdWRheXxneDozMjlkMjRmMGM4ZjUzMGY2>
- Villegas, M. A. (n.d.). *Trichoderma pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible*. Retrieved from [https://www.oriusbiotech.com/escrito?nom=Trichoderma\\_pers.\\_Características\\_generales\\_y\\_su\\_potencial\\_biológico\\_en\\_la\\_agricultura\\_sostenible](https://www.oriusbiotech.com/escrito?nom=Trichoderma_pers._Características_generales_y_su_potencial_biológico_en_la_agricultura_sostenible).
- Wakelin, S. A., Sivasithamparam, K., Cole, A. L. J., & Skipp, R. A. (2010). Saprophytic



growth in soil of a strain of *Trichoderma koningii*. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 42(3), 337–345. <https://doi.org/10.1080/00288233.1999.9513383>

Wallenhammar, A. C., Almquist, C., Schwelm, A., Roos, J., Marzec-Schmidt, K., Jonsson, A., & Dixelius, C. (2013). Clubroot , a persistent threat to Swedish oilseed rape production. *Phytopathology*, 00(00), 1–7.  
<https://doi.org/10.1080/07060661.2013.870606>

Zhirvi, C. M. (2016). Evaluacion de dos (2) especies nativas y una comercial de *Trichoderma* sp. como agente de control de los hongos que ocasionan el damping off (*Rhizoctonia* spp.) en semilleros de cafe (*Coffea arabica* L.) variedad bourbon, 62. Retrieved from <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/26240>

## 11. ANEXOS

### Anexo 1. Escala de severidad de la enfermedad



### Anexo 2. Variables que presentan distribución normal de los datos, para la comparación entre las dos especies de *Trichoderma* y el testigo, según la prueba de Shapiro–Wilks

Variable	n	D. E.	W*	p (unilateral)
Altura a los 30 d.d.t.	20	1.53	0.94	0.4437
Altura a los 90 d.d.t.	20	3.60	0.90	0.0886
Diámetro del cuello a los 30 d.d.t.	20	0.21	0.96	0.7245
Diámetro del cuello a los 60 d.d.t.	20	0.27	0.93	0.3178
Diámetro del cuello a los 90 d.d.t.	20	0.67	0.95	0.5635
Diámetro del tallo a los 30 d.d.t.	20	0.19	0.89	0.0679
Diámetro del tallo a los 60 d.d.t.	20	0.35	0.95	0.6126
Diámetro del tallo a los 90 d.d.t.	20	0.84	0.96	0.0727
Plantas sanas a los 90 d.d.t.	20	0.27	0.89	0.9450
Peso fresco a los 90 d.d.t.	20	4.05	0.91	0.1967
Peso seco (radicular) a los 90 d.d.t.	20	0.16	0.94	0.4769
Peso seco (foliar) a los 90 d.d.t.	20	0.34	0.92	0.2283



**Anexo 3.** Variables que presentan homogeneidad de varianzas, para la comparación entre las dos especies de *Trichoderma* y el testigo, según la prueba de Levene

Variable	n	F	p-valor
Diámetro del cuello a los 60 d.d.t.	20	3.35	0.0595
Diámetro del tallo a los 30 d.d.t.	20	0.70	0.5116
Peso seco (radicular) a los 90 d.d.t.	20	1.90	0.1797

**Anexo 4.** Analisis de varianza para las variables que cumplen con los supuestos del ANOVA, en la comparación de las dos especies de *Trichoderma* y el testigo.

Variable	TRATAMIENTO		CV
	SC	p-valor	
Diámetro del cuello a los 60 d.d.t.	0.04	0.7947	8.86%
Diámetro del tallo a los 30 d.d.t.	0.01	0.8567	7.30%
Peso seco (radicular) a los 90 d.d.t.	0.03	0.5826	14.07%

**Anexo 5.** Variables que presentan distribución normal de los datos, para la comparación de todos los tratamientos, según la prueba de Shapiro–Wilks

Variable	n	D. E.	W*	p (unilateral)
Altura a los 30 d.d.t.	28	0.66	0.94	0.3576
Altura a los 60 d.d.t.	28	0.76	0.96	0.6857
Altura a los 90 d.d.t.	28	0.31	0.91	0.0779
Diámetro del cuello a los 30 d.d.t.	28	0.11	0.95	0.5514
Diámetro del cuello a los 60 d.d.t.	28	0.19	0.93	0.1693
Diámetro del tallo a los 30 d.d.t.	28	0.13	0.96	0.6528
Diámetro del tallo a los 90 d.d.t.	28	0.23	0.98	0.9561
Porcentaje de afección a los 90 d.d.t.	28	1.03	0.97	0.7870
Plantas infectadas a los 90 d.d.t.	28	1.04	0.97	0.8564
Plantas sanas a los 90 d.d.t.	28	0.18	0.98	0.9450
Peso fresco a los 90 d.d.t.	28	0.80	0.98	0.9197
Peso seco (radicular) a los 90 d.d.t.	28	0.15	0.94	0.3051



Peso seco (foliar) a los 90 d.d.t.	28	0.13	0.98	0.9164
------------------------------------	----	------	------	--------

**Anexo 6.** Variables que presentan homogeneidad de varianzas, para la comparación de todos los tratamientos, según la prueba de Levene

Variable	n	F	p-valor
Altura a los 30 d.d.t.	28	2.51	0.0607
Altura a los 60 d.d.t.	28	2.49	0.0624
Altura a los 90 d.d.t.	28	1.76	0.1639
Diámetro del cuello a los 30 d.d.t.	28	0.95	0.4828
Diámetro del cuello a los 60 d.d.t.	28	1.42	0.2611
Diámetro del tallo a los 30 d.d.t.	28	1.51	0.2323
Diámetro del tallo a los 60 d.d.t.	28	0.30	0.9271
Peso fresco a los 90 d.d.t.	28	2.07	0.1078
Peso seco (radicular) a los 90 d.d.t.	28	1.06	0.4240
Peso seco (foliar) a los 90 d.d.t.	28	2.43	0.0670

**Anexo 7.** Analisis de varianza para las variables que cumplen con los supuestos del ANOVA, en la comparación de todos los tratamientos en estudio.

Variable	TRATAMIENTO		REPETICIÓN		CV
	SC	p-valor	SC	p-valor	
Altura a los 30 d.d.t.	44.74	<0.0001	0.53	0.8437	6.52%
Altura a los 60 d.d.t.	57.73	<0.0001	5.65	0.1237	7.64%
Altura a los 90 d.d.t.	657.93	<0.0001	1.38	0.0462	5.18%
Diámetro del cuello a los 30 d.d.t.	0.58	0.0025	0.06	0.3979	5.19%
Diámetro del cuello a los 60 d.d.t.	0.85	0.0631	0.18	0.3927	7.44%
Diámetro del tallo a los 30 d.d.t.	0.38	0.0656	0.08	0.4211	5.81%
Peso fresco a los 90 d.d.t.	586.62	<0.0001	6.11	0.1343	14.84%
Peso seco (radicular) a los 90 d.d.t.	0.14	0.6966	0.04	0.7837	15.34%
Peso seco (foliar) a los 90 d.d.t.	1.89	<0.0001	0.13	0.1779	11.43%

