

Alternativas biológicas con ácido naftalenacético (ANA) para el manejo de *Plasmodiophora brassicae* Woronin en coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *Botrytis*) bajo las condiciones en el municipio de Mutiscua

Yerson Yair Fuentes Rodríguez

Universidad de Pamplona  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Departamento de Agronomía  
Programa de Ingeniería Agronómica  
Pamplona  
2019

Alternativas biológicas con ácido naftalenacético (ANA) para el manejo de *Plasmodiophora brassicae* Woronin en coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *Botrytis*) bajo las condiciones en el municipio de Mutiscua

Yerson Yair Fuentes Rodríguez  
1.115.8611.84

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Ingeniero Agrónomo

Tutor

I.A M.Sc Ph.D Leonides Castellanos Gonzalez

Cotutor

I.A Cristhian Jair Villamizar Valencia

Universidad de Pamplona  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Departamento de Agronomía  
Programa de Ingeniería Agronómica  
Pamplona  
2019

## **Agradecimientos**

A la Universidad de Pamplona por brindarme la oportunidad de prepararme como profesional  
para la vida, con ética y liderazgo.

A los profesores de la Facultad de Ciencias Agrarias por aportarme todos sus conocimientos y  
experiencias para mi formación profesional.

Mi sincero agradecimiento al I.A MSc Ph.D Leonides Castellanos, tutor de la tesis, por sus  
conocimientos compartidos, su aporte en el análisis estadístico, consejos en la elaboración y  
finalización de este trabajo de grado.

Al I.A Crithian Villamizar por su apoyo técnico y el suministro de insumos para elaboración de  
este proyecto.

A la productora de hortalizas Cecilia Lizcano y su esposo Israel Torres en el municipio de  
Mutiscua por su colaboración con el terreno para la siembra del cultivo.

A mi familia por sus buenos deseos y apoyo incondicional para seguir adelante en cada paso de  
la vida.

A todas las personas, amigos y compañeros que hicieron parte de este proceso de formación.

Pamplona, 06 de Diciembre de 2019

Señores:

Comité de Trabajo de grado  
Departamento de Agronomía  
Facultad Ciencias Agrarias  
Universidad de Pamplona

Yo, Leónides Castellanos, de profesión Ingeniero Agrónomo; MSc. Ciencias Agrícolas; Ph D. Ciencias Agrícolas, identificado con Cédula de Extranjería N° 612406 de Cúcuta, docente del programa de Ingeniería Agronómica adscrito a la Facultad de Ciencias Agrarias perteneciente al GIAS Grupo de Investigación de Ganadería y Agricultura Sostenible, me permito informar mi decisión de Aprobación y Autorización para Sustentación del trabajo de pregrado titulado: Alternativas biológicas con ácido naftalenacético (ANA) para el manejo de *Plasmodiophora brassicae* Woronin en coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *Botrytis*) bajo las condiciones del municipio de Mutiscua de Yerson Yair Fuentes Rodríguez, identificado con cédula de ciudadanía N° 1.115.861.184 de Paz de Ariporo - Casanare, para optar el título de Ingeniero Agrónomo de la Universidad de Pamplona.

Sin otro particular, me suscribo de usted.  
Atentamente,

Atentamente

---

MSc. PhD. I.A. Leónides Castellanos González

Tutor/director del trabajo de grado 2019-2

## Tabla de contenido

<b>1.</b>	<b>Introducción</b> .....	<b>2</b>
<b>2.</b>	<b>Problema</b> .....	<b>3</b>
	<b>2.1 Planteamiento del problema</b> .....	<b>3</b>
	<b>2.2 Justificación</b> .....	<b>5</b>
<b>3.</b>	<b>Objetivos</b> .....	<b>5</b>
	<b>3.1 Objetivo general</b> .....	<b>5</b>
	<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>6</b>
<b>4.</b>	<b>Marco de referencia</b> .....	<b>6</b>
	<b>4.1 Antecedentes</b> .....	<b>6</b>
	<b>4.1.1 Internacional</b> .....	<b>6</b>
	<b>4.1.2 Nacional</b> .....	<b>10</b>
	<b>4.2 Marco contextual</b> .....	<b>10</b>
	<b>4.3 Marco teórico</b> .....	<b>11</b>
	<b>4.3.1 Clasificación taxonómica de la coliflor.</b> .....	<b>11</b>
	<b>4.3.2 Morfología de la coliflor</b> ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>Botrytis</i> ).....	<b>11</b>
	<b>4.3.3 Requerimientos ecofisiológicos del coliflor</b> .....	<b>11</b>
	<b>4.3.4 Hernia de las crucíferas</b> ( <i>Plasmodiophora brassicae</i> ).....	<b>12</b>
	<b>4.3.5 Los síntomas</b> .....	<b>13</b>

4.3.6 Hospedantes .....	13
4.3.7 Desarrollo de la enfermedad.....	13
4.3.8 Ciclo de la enfermedad.....	14
4.3.9 <i>Trichoderma</i> spp. ....	15
4.3.10 <i>Bacillus subtilis</i> .....	22
4.3.11 <i>Burkholderia cepacia</i> .....	23
4.3.12 Acido Naftalenacético (ANA) .....	23
4.4 Marco legal.....	24
4.4.1 Reglamento trabajo de grado .....	24
4.4.1 Constitución Política de Colombia 1991 .....	25
4.4.2 Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural .....	26
4.4.3 Instituto Colombiano Agropecuario - ICA .....	26
4.4.4 Norma Técnica Colombiana .....	26
5. Metodología.....	26
5.1 Comparación de la eficacia en condiciones de laboratorio con productos comerciales de <i>T. harzianum</i> , <i>B. subtilis</i> y <i>B. cepacia</i> para el control de <i>P. brassicae</i> .....	27
5.2. Determinación de la eficacia de alternativas que incluyen <i>T. harzianum</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. cepacia</i> y combinadas con ácido naftalenacético (ANA) para el control de <i>P. brassicae</i> en coliflor bajo las condiciones de Mutiscua.....	32

<b>5.3 Valoración del beneficio costo de las nuevas alternativas versus la tradicional y sin tratar.....</b>	<b>40</b>
<b>6. Resultados y análisis.....</b>	<b>42</b>
<b>6.1 Comparación de la eficacia en condiciones de laboratorio con cepas de <i>T. harzianum</i>, <i>B. subtilis</i> y <i>B. cepacia</i> para el control de <i>P. brassicae</i>. .....</b>	<b>42</b>
<b>6.2 Determinación de la eficacia de alternativas que incluyen <i>T. harzianum</i>, <i>B. subtilis</i>, <i>B. cepacia</i> combinadas con ácido naftalenacético (ANA) para el control de <i>P. brassicae</i> en coliflor bajo las condiciones de Mutiscua.....</b>	<b>43</b>
<b>6.3 Valoración del beneficio costo de las nuevas alternativas versus la tradicional y sin tratar.....</b>	<b>51</b>
<b>7. Conclusiones.....</b>	<b>54</b>
<b>8. Recomendaciones.....</b>	<b>55</b>
<b>9. Bibliografía.....</b>	<b>56</b>
<b>10. Anexos.....</b>	<b>61</b>

## Lista de tablas

Tabla 1. <i>Tratamientos evaluados bajo las condiciones de Mutiscua. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	35
Tabla 2. <i>Dosificación y frecuencia de aplicación empleadas en la investigación. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	36
Tabla 3. <i>Escala de severidad en el follaje de la planta afectadas por hernia Strelkove et al. (2006).</i> .....	38
Tabla 4. <i>Escala de severidad en raíces afectadas por hernia. Fuente: Strelkove (2006).</i> .....	39
Tabla 5. <i>Descripción de los resultados de laboratorio. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	42
Tabla 6. <i>Descripción de los resultados en la variable altura de la planta. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	44
Tabla 7. <i>Descripción de los resultados en la variable diámetro del tallo. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	45
Tabla 8. <i>Descripción de los resultados de la variable número de hojas. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	46
Tabla 9. <i>Porcentaje de incidencia de hernia en el follaje. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	47
Tabla 10. <i>Porcentaje de severidad de hernia en el follaje. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	48
Tabla 11. <i>Porcentaje de severidad en raíces afectadas por hernia. Fuente: A. personal, 2019.</i> ..	48
Tabla 12. <i>Porcentaje de incidencia y severidad en el ABCPE. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	49
Tabla 13. <i>Escala de pH tomado de las unidades experimentales. Fuente: A. personal, 2019.</i> ....	50
Tabla 14. <i>Descripción del porcentaje promedio en producción del cultivo. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	52
Tabla 15. <i>Descripción del rendimiento promedio del cultivo. Fuente: A. personal, 2019.</i> .....	52



Tabla 16. *Descripción de costo beneficio generado por el cultivo expresado en pesos*

*Colombianos. Fuente: A. personal, 2019. .... 53*

## Lista de Figuras

<i>Figura 1.</i> Ciclo de vida del patógeno (Galdames, 2017).....	15
<i>Figura 2.</i> Proceso de extracción del patógeno. a) Peso de raíces con síntomas de hernia. b) Filtración del patógeno. (A. personal, 2019). .....	27
<i>Figura 3.</i> Tratamientos evaluados en laboratorio (A. personal, 2019).....	30
<i>Figura 4.</i> Conteo de quistes inactivos en laboratorio (A. personal, 2019). .....	31
<i>Figura 5.</i> Cámaras de recuento (Focosi, 2014).....	31
<i>Figura 6.</i> Coordenadas geográficas del cultivo (Google Earth, 2019). .....	32
<i>Figura 7.</i> Diseño de parcelas trabajado en campo (A. personal, 2019).....	35
<i>Figura 8.</i> Distribución de las precipitaciones por semana muestreada. Fuente: Estación meteorológica del Proyecto Plantar en Mutiscua.....	51

## Lista de Anexos

Anexo 1. Delimitación de las parcelas experimentales (A. personal, 2019). .....	61
Anexo 2. Aplicación de productos biológicos a plántulas antes de la siembra (A. personal, 2019). .....	61
Anexo 3. Aplicación de productos biológicos al suelo y sitio definitivo (A. personal, 2019). ....	62
Anexo 4. Aplicación de productos biológicos durante su desarrollo fenológico (A. personal, 2019). .....	62
Anexo 5. Toma de variables morfométricas (A. personal, 2019). .....	63
Anexo 6. Síntoma de hernia de las crucíferas en el follaje (A. personal, 2019). .....	63
Anexo 7. Síntomas en campo de hernia de las crucíferas en las raíces (A. personal, 2019). .....	64
Anexo 8. Afectaciones en raíces ocasionadas por hernia (A. personal, 2019). .....	64
Anexo 9. Toma de pH en las unidades experimentales (A. personal, 2019). .....	65

## Resumen

El municipio de Mutiscua se basa en una economía campesina de tradición agrícola, asentado en la siembra de hortalizas y tubérculos a menor escala, que son comercializados por intermediarios en los mercados de Bucaramanga, Cúcuta y Pamplona.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar alternativas biológicas combinadas con la hormona reguladora de crecimiento ácido naftalenacético (ANA) para el manejo de *P. brassicae* en coliflor bajo las condiciones en el municipio de Mutiscua, para esto, se hizo un estudio preliminar en laboratorio con los productos comerciales de microorganismos antagonistas como *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Burkholderia cepacia* en concentraciones 1/10 y 1/100 comparando su eficacia con inóculos de quistes inactivos de *P. brassicae*, evaluando la tasa de sobrevivencia del patógeno ante los tratamientos utilizados. Luego de esto, se estableció un cultivo de coliflor en un área de 180 m<sup>2</sup> con los microorganismos anteriormente mencionados en combinación con ácido naftalenacético, evaluando 10 plantas por unidad experimental y tomando variables como altura, diámetro del tallo, número de hojas, incidencia y severidad tanto en la parte aérea como en raíces. Finalmente, con los resultados obtenidos, se elaboró un análisis del costo beneficio que genera la utilización de estas alternativas biológicas no agresivas al medio ambiente y la salud de hombre. Los resultados obtenidos demostraron que las aplicaciones de productos biológicos como *T. harzianum* bajo condiciones controladas y en campo combinados reguladores de crecimiento como ANA no detiene de forma curativa la enfermedad hernia de las crucíferas, no obstante, demuestra el potencial biocontrolador del antagonista, resultando favorable con una relación económica cuyo valor fue mejor para como *T. harzianum*

+ANA , seguido por la cal que, aunque con poca efectividad resulta la alternativa más barata ayudando a que puedan ser de gran utilidad hacia una agricultura ecológica sostenible.

## 1. Introducción

El protozoo *Plasmodiophora brassicae* Woronin, causante de la enfermedad comúnmente llamada hernia, afecta solo a las plantas de la familia de las crucíferas (coliflor, brócoli, repollo y otras) (Pengjie et al., 2019), causando entre un 70 a 80% de pérdidas en los rendimientos (Castillo & Guerrero, 2012).

La enfermedad causa grandes pérdidas económicas en el municipio Mutiscua - Norte de Santander debido a que este se ha especializado en la producción de hortalizas desde hace muchos años y existen pocas posibilidades de rotación de cultivos, debido a ello se ha optado por convivir con el microorganismo que puede sobrevivir en forma de estructuras resistentes más de 10 años en el suelo, por lo tanto se hace necesario la búsqueda de alternativas eficaces de manejo con productos biológicos, menos contaminantes con el medio ambiente.

Dejar de sembrar por al menos 10 años o la lucha química han sido las soluciones en lugares productores de hortalizas para evitar afectaciones por la hernia en las crucíferas, sin embargo por lo tóxico de los productos usados la aplicación de moléculas sintéticas al suelo se hizo insostenible ambientalmente y económicamente.

En la literatura se han propuesto algunas alternativas preventivas de manejo como: el uso de *Trichoderma* spp. y *B. subtilis* para el manejo de la enfermedad, los resultados son aún inconsistentes y a veces contradictorios, por lo que se ha recomendado profundizar y realizar más investigaciones para comprobar en cada localidad la eficacia de estos antagonistas en función de las condiciones edafoclimáticas, el sistema de manejo agronómico de los agricultores,

las especies, variedades de crucíferas, el potencial de inóculo del fitopatógeno en el suelo y la capacidad de las cepas de los antagonistas de realizar su efecto biocontrolador. En ese sentido no se han realizado investigaciones bajo las condiciones de Mutiscua.

En muchas zonas los agricultores han optado por aplicar cal agrícola en aras de subir el pH y disminuir las afectaciones por el protozoo. Esta alternativa constituye una práctica común en Mutiscua, sin embargo, no siempre se logran los resultados esperados por lo que se impone la necesidad de realizar más investigación que brinden otras alternativas de solución efectivas y económicamente viables a los agricultores.

## **2. Problema**

### **2.1 Planteamiento del problema**

La hernia de las crucíferas, causada por *P. brassicae.*, afecta a las plantas de la familia Brassicacea tales como coliflor, brócoli, repollo, entre otras, causando afecciones en las raíces al propiciar la elongación y división celular en los hipocótilos y la formación de agallas en las raíces de las plantas. Como resultado, las plantas infectadas no pueden obtener suficiente agua y nutrientes (Pengjie et al., 2019).

Woronin determinó esta especie como el agente causal de la hernia, y elaboró el primer informe sobre la morfología y la fisiología del patógeno en 1878, o sea, que la enfermedad se conoce hace más de 130 años y se considera emergente en muchos lugares como en Canadá (Gossen et al., 2015).

El municipio de Mutiscua Norte de Santander, cuya característica principal es la siembra de hortalizas entre ellas las crucíferas como: brócoli, coliflor y repollo (Mutiscua, 2018), ha sido afectado desde hace años por el patógeno de *P. brassicae*, ocasionando con ello pérdidas a los

agricultores, al llegar a devastar gran parte de estos cultivos impidiendo volver a sembrar en ellos especies susceptibles. Debido a esto, se ha disminuido en algunas veredas el área de siembra de las crucíferas ocasionando una falta de oferta y conllevando a que los precios aumenten.

Otra causante de la diseminación de patógeno *P. brassicae* en la zona, tiene que ver con las malas prácticas agrícolas de los productores en las diferentes veredas y la forma en que tratan de mitigar esta problemática, realizando tratamientos al suelo con productos altamente tóxicos que atentan la micro, meso y microbiota del suelo, generando así, un impacto negativo en la fertilidad de este.

Teniendo en cuenta la ubicación geográfica de municipio de Mutiscua, con una gran extensión del perteneciente al páramo de Santurbán, hace que se incrementen los riesgos del impacto ambiental con los cultivos de hortalizas y es donde se centraría la solución a la problemática fitosanitaria en la presente investigación. Es por este motivo, que se pretende evaluar diferentes alternativas biológicas y amigables con la capa edáfica, esperando con estas mitigar los daños causados por este patógeno con la incorporación de alternativas que contribuyan a un manejo eficaz del mismo. Hasta el momento esta enfermedad no tiene un control efectivo en la zona, a pesar de aplicarse cal agrícola para subir el pH y de esta forma atenuar los efectos de la enfermedad.

Profundizar sobre la acción de *Trichoderma* spp. se hace necesario, ya que es un hongo antagonico contra microorganismos patógenos de las plantas, por su capacidad para producir secreciones enzimáticas tóxicas extracelulares que causan desintegración y muerte en hongos fitopatógenos (Villegas, 2015) y tambien de nemátodos (Pérez, Castellanos & Almarales, 2011); sobre *B. subtilis*, teniendo en cuenta que es una bacteria antagonica la cual produce metabolitos secundarios, con propiedades antifúngicas, supresores efectivos contra diversos fitopatógenos

(Ariza & Sanchez , 2012); y además *B. cepacia*, que aunque no se recomienda en la literatura contra *P. brassicae* es considerada como una bacteria atractiva por su poder antagónico para el control de patógenos, además, de tener propiedades como estimulador de crecimiento vegetal (Toledo, Hernández, Alvarez, Martín, & Márquez, 2002).

## **2.2 Justificación**

La investigación se hace necesaria ya que en pruebas realizadas en la zona de Mutiscua con productos comerciales a base de *T. harzianum*, *B. subtilis*, *B. cepacia* y el enraizador ácido naftalenacético (ANA) no se observó una reducción importante de la enfermedad, sin embargo, en otros trabajos se varió la forma de hacer los tratamientos y se aplicaron mezclados los bioproductos y el enraizante, se demostró que disminuyó considerablemente la enfermedad. Las condiciones frías y húmedas de la Mutiscua obligan a profundizar en la posible existencia y capacidad de control de cepas más adaptadas de estos antagonistas que pudieran tener perspectivas de utilizarse en el futuro. También, para disminuir la actividad biológica de microorganismos oportunistas que pueden hospedarse en los diferentes cultivos agrícolas durante largos periodos, llegando a ocasionar grandes pérdidas económicas en la agricultura. Mejorando la calidad de vida de productores de la zona y sus familias.

## **3. Objetivos**

### **3.1 Objetivo general**

Evaluar alternativas biológicas combinadas con ácido naftalenacético (ANA) para el manejo de *P. brassicae* en coliflor bajo las condiciones en el municipio de Mutiscua, Norte de Santander.



### 3.2 Objetivos específicos

- Comparar la eficacia de *T. harzianum*, *B. subtilis* y *B. cepacia* en condiciones de laboratorio para el control de *P. brassicae*.
- Determinar la eficiencia de alternativas que incluyen *T. harzianum*, *B. subtilis* y *B. cepacia* combinadas con ácido naftalenacético para el control de *P. brassicae* en coliflor bajo las condiciones de Mutiscua.
- Valorar el costo-beneficio de las nuevas alternativas versus la tradicional y no tratadas.

## 4. Marco de referencia

### 4.1 Antecedentes

#### 4.1.1 Internacional

##### **Alternativas biológicas para el control de la hernia de las crucíferas**

Botero (2016), buscó evaluar el efecto de *T. asperellum* cepa Th034, *T. brevicompactum* cepa Th201 y *T. koningiopsis* cepa Th003 sobre la reducción de la hernia en repollo ‘Delus’. Para tal fin se llevaron a cabo experimentos en cuarto de crecimiento de plantas y en un campo infestado. Para los ensayos en cuarto de crecimiento de plantas, se emplearon dos concentraciones del patógeno, y *Trichoderma* se aplicó una o dos veces; la enfermedad se evaluó 60 días después de la inoculación. Para los ensayos en campo *Trichoderma* se aplicó una, siete o catorce veces durante el ciclo, y se llevaron a cabo evaluaciones de la enfermedad cada dos semanas. En condiciones controladas, se observó disminución de la enfermedad únicamente en bajas concentraciones del patógeno; la mayor reducción de la enfermedad se encontró con una sola

aplicación de *T. koningiopsis* y *T. brevicompactum*. La reducción de la enfermedad por parte de *T. asperellum* fue proporcional al número de aplicaciones efectuadas. Los resultados observados en campo no fueron tan concluyentes como los observados en condiciones controladas; no obstante, se observó disminución de la enfermedad cuando *T. brevicompactum* se aplicó 14 veces en el ciclo. De los resultados puede concluirse que *T. brevicompactum* exhibe potencial para el manejo de la hernia de las crucíferas cuando se aplica frecuentemente, mientras que cepas de *T. asperellum* o *T. koningiopsis* pueden ser potenciales para el manejo de la enfermedad en densidades bajas de inóculo del patógeno.

Pengjie (2019), evaluó la efectividad de diferentes períodos de control para la enfermedad de clubroot (hernia) de la col China. Una cepa muy potente de *B. subtilis*, XF-1, que se aisló de la rizósfera de coles chinas con severa raíz de club en el distrito de Guandu de Kunming, provincia de Yunnan, China, tuvo fuertes efectos inhibitorios tanto en la supervivencia como en la germinación de las esporas en reposo de *P. brassicae*. Se evaluaron varias estrategias para administrar de manera eficiente la enfermedad en la col china, y se investigaron diferentes mecanismos. La capacidad de los pelos de la raíz del repollo chino para reducir la infección por *P. brassicae* en el crecimiento y la eficiencia de la colonización de XF-1 en raíces de plántulas también se estudió. Las respuestas a la supresión de la hernia aumentaron con el aumento de la edad de las plántulas en condiciones de macetas y campos, y la tasa de pelo de la raíz no infecciosa aumentó con la inoculación de patógenos, lo que sugiere que la edad de las plántulas afecta la infección por *P. brassicae*. La aplicación del cultivo líquido de *B. subtilis* XF-1 para el tratamiento durante las etapas de desarrollo de las plántulas de col chinas infectadas disminuyó gradualmente el efecto de control. Por otra parte, empapando las semillas con *B. subtilis* se

redujo la tasa de incidencia de la enfermedad y la incidencia de la enfermedad en un 40% y 69%, respectivamente. Estos resultados indican que la prevención y el tratamiento por *B. subtilis* XF-1 en una etapa temprana es la mejor manera de reducir el daño causado por la enfermedad.

En el caso de *B. cepacia* no tiene un registro como tal en control para *P. brassicae*. Pero según, Doncel & Cordero (2017) la actividad anfifúngica de *B. cepacia* contra el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* la cual inhibe el crecimiento micelial y la germinación de la espora entre un 41 y 100% respectivamente, comprobando así su actividad antifúngica. Además, esta bacteria ha sido utilizada como promotora de crecimiento vegetal en diferentes cultivos de interés comercial y como agente de biocontrol de fitopatógenos.

### **El empleo de enraizantes para el manejo de *P. brassicae***

La aplicación de un enraizante Fortiraíz (Ecoagro, 2014) a una dosis de 4,5 g/L para el manejo de la hernia de las crucíferas en brócoli en Ecuador, produjo resultados alentadores, al mantener la incidencia de la enfermedad en 10,63 % alcanzando las plantas mayor altura y mayores rendimientos que los testigos que alcanzaron entre 14 y 17 % de incidencia de la enfermedad por lo que fue recomendado para disminuir la incidencia de la enfermedad e incrementar la productividad del cultivo de brócoli (Telenchana, 2015).

### **Estudios en laboratorio con *P. brassicae***

En un estudio de patogenicidad con fuentes de inóculo del patógeno de diferentes zonas de Brasil mostró que al inocular sobre varias especies de crucíferas no se observaba un patrón genético específico en cuanto al lugar de origen de las poblaciones evaluadas, mostrando que

incluso en lugares distantes y con diferencias en cuanto a la patogenicidad, tales poblaciones son genéticamente similares Cruz et al. (2009).

La preservación de las estructuras de resistencia de *P. brassicae*, en condiciones de laboratorio, es dificultada por el hecho de tratarse de un parásito obligatorio. Por tal razón Cruz et al. (2008), realizaron ensayos para la preservación de estas por congelación usando un congelador común. Hubo una diferencia estadística entre el testigo y los tratamientos con materiales congelados en el período de 21 a 242 días, los cuales preservaron sus características patógenas, mostrando que el método de congelación en congelador es una buena opción para la preservación de las estructuras de reposo de este patógeno.

### **Uso de cal agrícola para el manejo de hernia de las crucíferas**

Heinrich y Stone (2014), demostraron que el encalado del suelo es un método efectivo para reducir la incidencia y severidad del patógeno *P. brassicae*, ya que se busca tener un pH de 7,1 en los suelos y aunque no elimina al patógeno reduce la infección de la planta.

Donald et al. (2004) Probaron la eficiencia de diferentes granulometrías de calcio cianamida y calcáreo en el control de la hernia de las crucíferas y verificaron que las granulaciones más finas del producto, en suelos contaminados de Australia, fueron más eficientes en el control de la enfermedad y proporcionaron aumento de producción de brócoli, cuando se aplica hasta siete días antes del trasplante de las mudas. Este autor señala que el aumento de pH de suelo no elimina el patógeno de suelos contaminados, pero interfiere en el proceso de infección radicular, o sea, en la fase inicial de la enfermedad, y que las partículas más finas de los productos son más eficientes por reaccionar mejor con las superficies de las partículas del suelo, proporcionando un aumento de pH más eficiente. Pero el exceso de calado

también puede perjudicar a los huéspedes, impidiendo la absorción de otros nutrientes por la planta, dejándolos debilitados.

#### **4.1.2 Nacional**

Castillo & Guerrero (2008) evaluaron el efecto de controladores biológicos sobre hernia de las crucíferas en Tabio, Cundinamarca el cual consistió en determinar el efecto del EM y del hongo *Trichoderma* en el desarrollo del patógeno. Los tratamientos fueron: a) EM; b) EM + *Trichoderma* nativo; c) EM + *Trichoderma* comercial; d) *Trichoderma* nativo; e) *Trichoderma* comercial; y, f) testigo. Se determinó la severidad del ataque por la relación entre el volumen de las raíces con agallas y el volumen de las raíces totales por planta. En los resultados no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos con ninguna de las variables evaluadas, pero sí se observó que en época lluviosa se incrementó la severidad del patógeno, causando entre un 70 a 80% de pérdidas en rendimiento. El híbrido del brócoli usado presentó tolerancia a *P. brassicae* porque produce nuevas raíces sanas para reemplazar las raíces con agallas, lo que permite un mejor desarrollo de las plantas y un mejor rendimiento del brócoli.

#### **4.2 Marco contextual**

Las parcelas del experimento se ubicaron en Mutiscua – Norte de Santander, limita al norte con Cucutilla y Pamplona, al sur con Silos, al oriente con Cácuta y Pamplona y al occidente con el departamento de Santander. Este municipio cuenta con una población de 3.847 habitantes, ubicados el 85% en el área rural y el 15% en el área urbana. Su economía se sustenta en su tradición agrícola, con una economía campesina basada en la siembra de hortalizas y tubérculos a menor escala, que son comercializados por intermediarios en los mercados de Bucaramanga, Cúcuta y Pamplona. Otro renglón de producción se centra en el cultivo de trucha como

alternativa económica que ha generado empleos en la región. Así mismo se registra la explotación de mármol que ha disminuido por precarias condiciones de trabajo, falta de técnicas mineras y dificultades de mercadeo (CONSORNOC, 2010).

### 4.3 Marco teórico

#### 4.3.1 Clasificación taxonómica de la coliflor.

Reino: Plantae  
 División: Magnoliophyta  
 Clase: Magnoliopsida  
 Orden: Brassicales  
 Familia: Brassicaceae  
 Género: *Brassica*  
 Especie: *Brassica oleracea* var. *Botrytis* (Pinzón, 2012)

#### 4.3.2 Morfología de la coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *Botrytis*)

Posee una raíz ramificada y profunda, puede alcanzar un radio de 45 cm a 60 cm desde la parte central. Su tallo es cilíndrico corto, carnoso, muy pequeño (10 cm), grueso, sin ramificación y al alcanzar su altura definida comienza la formación de hojas. Sus hojas son sésiles, enteras o hendidas, oblongas, (de unos 40 a 50 cm de largo y 20 cm de ancho) elípticas, largas y lanceoladas, de color verde claro, cubiertas de una delgada cera, a veces con rizaduras en los bordes, erguidas hacia arriba. Las flores verdaderas se forman en las axilas de las flores abortivas, forman un racimo terminal de flores de color amarillo. La cabeza la conforma la inflorescencia hipertrofiada de yemas florales con pedúnculos carnosos de color crema o blanco. El fruto es una silicua verde amarillenta, y contiene cerca de 20 semillas, las cuales son de tamaño pequeño, sin cotiledón, ricas en aceite y miden de 2 a 3 mm de diámetro (Florez, 2012).

#### 4.3.3 Requerimientos ecofisiológicos del coliflor

La temperatura requerida en el periodo de crecimiento es de 15-21 °C, su fotoperiodo oscila entre las 9-12 horas luz durante el día. Se adapta bien a zonas que van desde los 1800-2700 msnm y necesita una precipitación anual de 800-1200 mm. El coliflor demanda suelos francos, ricos en materia orgánica, medianamente tolerante a las sales, poco tolerante a la acidez, pH 6.0-6.8 (Pinzón, 2012)

#### **4.3.4 Hernia de las crucíferas (*Plasmodiophora brassicae*)**

##### **Clasificación taxonómica**

Dominio: Eukaryota

Reino: Protista

División: Myxomycota

Clase: Plasmodiophoromycetes

Orden: Plasmodiophorales

Familia: Plasmodiophoraceae

Género: *Plasmodiophora*

Especie: *P. brassicae*

El agente causal es un protozoo que se comporta como parasito obligado. En su ciclo de vida se distinguen diferentes estructuras biológicas: esporas de resistencia, zoosporas, plasmodios y zoosporangios. Las esporas de resistencia son las estructuras esenciales en la sobrevivencia y diseminación del patógeno. Una vez que éstas llegan al suelo, pueden sobrevivir casi 20 años en ausencia de un hospedero, sin embargo, pueden iniciar su germinación rápidamente en presencia de un hospedero susceptible. Al germinar, forman esporas móviles (zoosporas) que, en suelos con alta humedad, encuentran condición óptima para infectar nuevas plantas. En las raíces

infectadas se forma una estructura microscópica conocida como plasmodio, que invade las células de las raíces conduciendo a la formación de tumores o agallas. Posteriormente, se produce una nueva generación de zoosporas que reinfectan las raíces y plantas cercanas, tornándose el proceso de infección invasivo con la formación de nuevos plasmodios. Las agallas formadas en las raíces de las plantas infectadas se descomponen y nuevamente las esporas de resistencia llegan al suelo (Galdames, 2017).

#### **4.3.5 Los síntomas**

Las plantas infectadas al principio tienen unas hojas de color verde pálido a amarillento. Más tarde, las plantas infectadas muestran marchitamiento en días calurosos y soleados, recuperándose durante la noche. Las plantas jóvenes pueden morir pronto por la enfermedad después de la infección, mientras que las plantas más viejas pueden permanecer vivas pero se atrofian y no producen cabezas comercializables. Los síntomas más característicos de la enfermedad es que aparecen en las raíces unas inflamaciones en formas de huso, esféricas, nudosas o en forma de hernias. Las hinchazones pueden ser pocas y aisladas o pueden unirse y cubrir todo el sistema radicular (Agrios, 2005).

#### **4.3.6 Hospedantes**

Esta enfermedad afecta prácticamente a todas las especies de la familia Brassicaceae, que incluyen hortalizas (repollo, brócoli, coliflor, repollo chino, etc.) y forrajeras (nabo forrajero, col forrajera, nabo de hoja y nabo de raíz), entre otras (Galdames, 2017).

#### **4.3.7 Desarrollo de la enfermedad**



A medida que los plasmodios pasan a través de las células se van establecido en algunas de las raíces, que se estimulan para agrandar, dividir de forma anormal, y llegar a ser cinco o más veces el tamaño normal. Las células infectadas de una hernia, resultan en pequeños grupos a lo largo del tejido enfermo, y los grupos suelen estar separados por células no infectadas, raramente se infectan todas las células de una hernia; generalmente, solo alrededor del 30% del tejido está ocupado por plasmodium. Sin embargo, incluso las células no invadidas de los tejidos enfermos se estimulan a crecer de forma anormal. Las hernias infectadas con plasmodio no solo utilizan mucho de los alimentos necesarios para el crecimiento normal de la planta, también interfieren con la absorción y translocación de nutrientes minerales y agua a través del sistema radicular esto da lugar a un retraso gradual en el crecimiento y al marchitamiento de las partes aéreas de la planta, además, el rápido crecimiento de las células agrandadas de los tejidos de la hernia son incapaces de formar una capa de corcho en su superficie y son fácilmente rotas e invadidas por microorganismos secundarios, débilmente parasitarios (Agris, 2005).

#### **4.3.8 Ciclo de la enfermedad**

*P. brassicae* es un obligado transmitido por el suelo. El patógeno tiene tres etapas en su vida. Ciclo: supervivencia en suelo, infección del vello radicular e infección cortical. Las esporas de *P. brassicae* en reposo tienen una gran capacidad para sobrevivir en el suelo, estas esporas en reposo liberan primaria zoosporas, cuando una zoospora alcanza la superficie de una raíz de pelo, penetra a través de la pared celular, esta etapa es denominada etapa de infección del pelo radicular. Dentro de los pelos de la raíz el patógeno forma plasmodios primarios, una serie de divisiones nucleares que ocurren sincrónicamente en los plasmodios, seguidas de por escisión en zoosporangia. Más tarde, 4-16 zoosporas secundarias se forman en cada zoosporangio y se liberan en el suelo. Las zoosporas secundarias penetran en los tejidos corticales de las raíces, un

proceso llamado infección cortical. Dentro de las células de las raíces invadidas, el patógeno se desarrolla en plasmodios secundarios que se asocian con una hipertrofia celular, seguida de formación de agallas en los tejidos. Los plasmodios finalmente se convierten en una nueva generación de esporas latentes, seguidas de su liberación de nuevo en el suelo como estructuras de supervivencia. Se han desarrollado *in vitro* cultivos duales con pelos de raíces y suspensiones de esporas latentes de *P. brassicae* y se ha podido observar de una forma no destructiva el crecimiento de este patógeno dentro de las células hospederas (Kageyama y Asano, 2009).

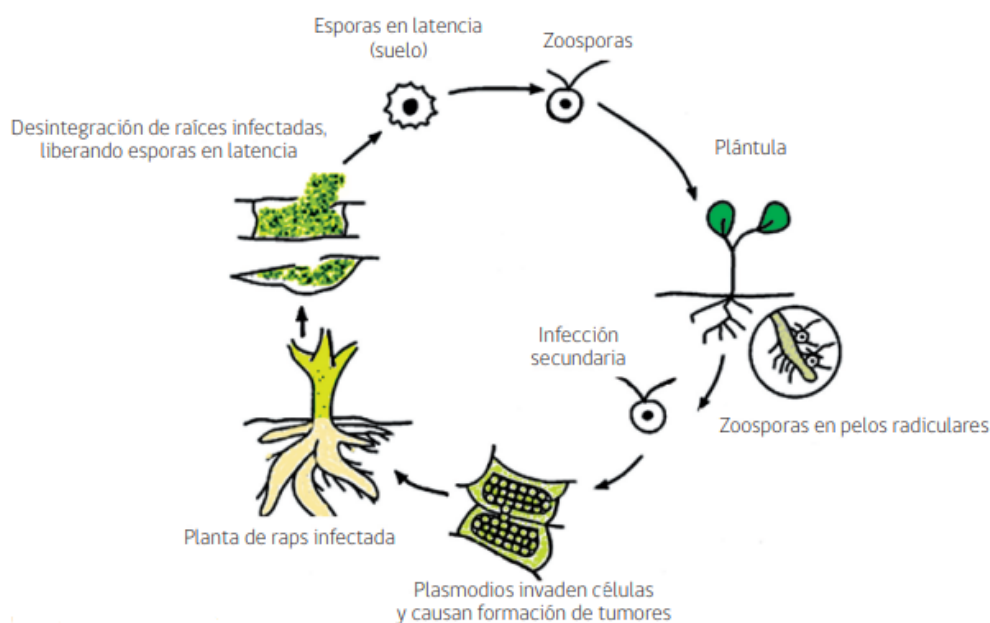


Figura 1. Ciclo de vida del patógeno (Galdames, 2017).

#### 4.3.9 *Trichoderma* spp.

Es un tipo de hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. Se ubica taxonómicamente en el Reino: Fungi, División: Mycota, Subdivisión: Eumycota, Clase: Hyphomycetes, Orden: Moniliales,

Familia: Moniliaceae. Pertenece a la subdivisión Deuteromicetes que se caracterizan por no poseer, o no presentar un estado sexual determinado (López *et al.*, 2017).

En el género *Trichoderma* se ubican más de 30 especies, todas con efectos benéficos para la agricultura y otras ramas. Este hongo se encuentra ampliamente distribuido en el mundo, y se presenta en diferentes zonas y hábitat. *Trichoderma* spp., tiene diversas ventajas como agente de control biológico. Los antagonistas contribuyen a la atenuación de los daños que causan las enfermedades, en los agroecosistemas donde existan condiciones para su desarrollo y conservación. Para lograr este objetivo, los microorganismos beneficiosos presentan diferentes modos de acción que les permitan ejercer su efecto biorregulador. Estos atributos, de conjunto con la capacidad de multiplicarse abundantemente, se encuentran entre los de mayor importancia para su selección como agentes de control biológico. Lleva a cabo la toma de nutrientes de los hongos (a los cuales degrada) y de materiales orgánicos ayudando a su descomposición, por lo cual las incorporaciones de materia orgánica y compostaje lo favorecen; también requiere de humedad para poder germinar, su velocidad de crecimiento es bastante alta, por esto es capaz de establecerse en el suelo y controlar enfermedades.

Es reconocido por ser utilizado como controlador biológico, al expresar una capacidad micoparasítica sobre algunos hongos fitopatógenos. Adicionalmente, *Trichoderma* spp. es antagonista de microorganismos fitopatógenos debido a la capacidad de sintetizar enzimas hidrolíticas que generan la muerte en hongos fitopatógenos habitantes del suelo, pero además es un buen competidor por oxígeno, nutrientes y espacio debido a su buena adaptabilidad y rápido crecimiento. El modo de acción de *Trichoderma* spp. está asociado a la descomposición de la materia orgánica que hay en el suelo y por el antagonismo con microorganismos patógenos a las

plantas usando procesos de amensalismo, depredación, parasitismo y competición, y por su hiperparasitismo (Infante et al., 2009).

*Trichoderma* spp., probablemente sea el hongo beneficioso, más versátil y polifacético que abunda en los suelos capaces de aportar una inmensa gama de beneficios que demuestran su incalculable valor desde el punto de vista agrícola, beneficios que lo convierten en un microorganismo de imprescindible presencia en los suelos y cultivos (Valdés, 2014).

La utilización de algunos microorganismos como agentes de CB ha demostrado ser una alternativa para mantener una alta producción con un bajo impacto económico en diferentes sistemas agrícolas. La utilización de especies de *Trichoderma* spp., en el CB de enfermedades de plantas se ha relacionado principalmente con sus habilidades antagonistas, observadas hace casi un siglo, frente a hongos y oomicetos fitopatógenos (Hermosa, 2017).

Las diferentes especies de *Trichoderma* spp., ejercen mecanismos de control mediante: competencia directa (por espacio y nutrientes), producción de metabolitos antibióticos, la inactivación de enzimas del agente patógeno, modificación de las condiciones ambientales, producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal y por micoparasitismo (Intagri, 2014).

### **Competencia**

La competencia por espacio y/o nutrientes ha sido considerada uno de los mecanismos clásicos de biocontrol de este género. Tiene una rápida tasa de desarrollo, lo que hace que sea un fuerte competidor por espacio a la hora de colonizar la Rizosfera. Por otra parte, tiene una capacidad superior de movilizarse y tomar los nutrientes del suelo, siendo muy versátil para utilizar sustratos como fuente de carbono y nitrógeno (Intagri, 2014).

La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros y microelementos. Esta forma de competencia en los suelos o sustratos ricos en nutrientes no tiene importancia desde el punto de vista práctico. Por ello, cuando se emplea fertilización completa o existe exceso de algunos de los componentes de los fertilizantes e inclusive en suelos con alto contenido de materia orgánica, este tipo de antagonismo es poco eficaz (Infante et al., 2009).

### **Producción de metabolitos (Antibiosis)**

*Trichoderma* spp., tiene la capacidad de producir compuestos orgánicos volátiles y no volátiles, que juegan un papel importante inhibiendo el crecimiento y desarrollo de microorganismos patógenos. En estas interacciones están involucradas enzimas líticas extracelulares, antibióticos y compuestos de bajo peso molecular (Intagri, 2014)

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos. Algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistente al antibiótico. En la práctica uno de los antecedentes ha sido el caso de la aparición de cepas de *Agrobacterium tumefaciens* Smith y Townsend., resistentes al Agrosin 84, un antibiótico producido por una cepa de *Agrobacterium radiobacter* Beijerinck y van Del Den.,

Muchas cepas de *Trichoderma* spp., producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico. Tales sustancias inhibitoras son consideradas “antibióticos”. Al inicio se estimó que la actividad inhibitora de aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre otros hongos se debía solo a compuestos no volátiles. Dennis y Webster, fueron los pioneros en esta temática,

con la realización de los trabajos más completos acerca de la función de los antibióticos producidos por hongos del género *Trichoderma* spp., sobre patógenos de las plantas. Ellos relacionaron la actividad antibiótica de *Trichoderma* spp., con compuestos no volátiles, entre los que se encontraban uno identificado como trichodermina y otros metabolitos peptídicos (Infante et al., 2009).

### **Micoparasitismo**

Es definido como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados las especies de *Trichoderma* spp., durante el proceso de micoparasitismo crecen quimio trópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico, que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno (Intagri, 2014).

### **El crecimiento quimiotrópico**

El quimiotropismo positivo es el crecimiento directo hacia un estímulo químico. En la etapa de localización del hospedante, se ha demostrado que *Trichoderma* spp., puede detectarlo a distancia y sus hifas crecen en dirección al patógeno como respuesta a un estímulo químico. Las investigaciones realizadas a lo largo de muchos años con un número considerable de cepas de *Trichoderma* spp., y de especies de hongos fitopatógenos han demostrado que estas son efectivas sólo contra patógenos específicos. El conocimiento de esta especificidad condujo a la idea de que

el reconocimiento molecular entre *Trichoderma* spp., y el hospedante es el evento esencial que precede al proceso antagonista (Infante et al., 2009).

### **Adhesión y enrollamiento**

Cuando la respuesta de reconocimiento es positiva, las hifas de *Trichoderma* spp., se adhieren a las del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorio, se enrollan alrededor de estas, todo esto está mediado por procesos enzimáticos la adherencia de las hifas de *Trichoderma* spp., ocurre gracias a la asociación de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno (Infante et al, 2009).

### **Actividad lítica**

En esta etapa ocurre la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista. Por los puntos de contacto donde se produce la lisis y aparecen los orificios, penetra la hifa del micoparásito en las del hongo hospedante. La actividad enzimática en *Trichoderma* spp., ha sido estudiada extensamente, así como las posibles funciones que desenvuelven en el micoparasitismo. Las especies de *Trichoderma* spp., tienen un elevado potencial parasítica, con una actividad metabólica muy particular, que les permite parasitar eficientemente las estructuras fúngicas de los hongos (Infante et al., 2009).

### **Resistencia inducida**

*Trichoderma* spp., en el hospedero es uno de los mecanismos indirectos de mayor interés en la actualidad involucra cambios celulares en el hospedero, tales como un aumento de depósitos de

calosa en el interior de la pared celular y aumento en la actividad peroxidasa y quitinasa. Otros procesos relacionados con la inducción sistémica contra patógenos del suelo, tal como *F. Oxysporum* f. sp. *Lycopersici.*, son el confinamiento, la inhibición del patógeno y los cambios histológicos en el hospedero. Estos últimos relacionados con la producción de reguladores de crecimiento y estimulación de la división, diferenciación y crecimiento celular en la planta por el agente elicitor. La rápida colonización de la rizosfera y de las capas superficiales de las raíces permiten el control biológico y la supresión de los hongos fitopatógenos del suelo, siendo una de las principales características de *T. harzianum* Rifai., que por consecuencia de este biocontrol se estimula el crecimiento de las plantas. Además del efecto biocontroladores, varios mecanismos se han propuesto para explicar el efecto promotor del crecimiento, entre ellos, el que *T. harzianum* Rifai., produce metabolitos que estimulan el crecimiento y desarrollo vegetal seguido de la producción de fitohormonas de crecimiento por parte del hongo como el ácido 3-indol acético (AIA) y sus análogos, viéndose favorecido el desarrollo radical. La versatilidad, adaptabilidad y la fácil manipulación de las especies de *Trichoderma* spp., permite tener diferentes roles en la agricultura (López et al., 2017).

Existen numerosos reportes de la acción de *Trichoderma* spp., como estimulador de crecimiento en amplia gama de cultivos. Lo refieren como estimulador de crecimiento en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.); así como en judía (*Phaseolus vulgaris* L.), en fruta bomba (*Carica papaya* L.). Algunas especies de *Trichoderma* spp., han sido informadas como estimuladoras de crecimiento en especies tales como clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), berenjena (*Solanum melongena* L.), arveja (*Pisum sativum* L.), pimienta (*Piper nigrum* L.), rábano (*Rhapanus sativus* L.), tabaco (*Nicotiana*



*tabacum* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), zanahoria (*Daucus carota* L.), algodón (*Gossypium herbaceum* L.), y otras (Valdés, 2014).

Otra de las funciones beneficiosas de *Trichoderma* spp., es la de proteger las semillas contra el ataque de hongos patógenos. Este hongo coloniza las semillas botánicas protegiendo las futuras plántulas en la fase post emergente de patógenos fúngicos. *Trichoderma* spp., produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y esporas “conidias”. Las esporas son los más viables de los propágulos empleados en programas de biocontrol. Estos cuerpos especializados se caracterizan por poseer una gruesa pared exterior, constituida por tres capas (endospora, epispora y perispora) que protegen el interior del conidio (protoplasto). Esta gruesa pared se diferencia de la pared celular de las células vegetativas del hongo (hifas y clamidosporas), las cuales son mucho más delgadas y no está formada por capas constitutivas como las esporas. La ventaja del conidio de poseer una pared celular gruesa es la posibilidad de aislarlo de su medio natural y que sobreviva a condiciones adversas, manteniéndolo en dormancia hasta que las condiciones sean propicias para la germinación (López et al., 2017).

#### 4.3.10 *Bacillus subtilis*

Se ubica taxonómicamente en el Reino: Bacteria, División: Firmicutes, Clase: Bacilli, Orden: Bacilliales, Familia: Bacillaceae, Género: *Bacillus*, Especie: *B. subtilis* (GALÁN, 2007).

Es una bacteria Gram positiva, tiene la habilidad para formar una resistente endospora protectora, permitiendo al organismo tolerar condiciones ambientalmente. Tiene una actividad fungicida natural, y es empleado como un agente de control biológico. *B. subtilis* provee un control efectivo de enfermedades causadas por hongos y bacterias. El compuesto bioquímico presente en este producto combate los agentes patógenos por su modo de acción. Posee alto

espectro de acción. Aplicación foliar y radicular. Se recomienda para brócoli, cebolla, ajo, especias, flores, fresas cucurbitáceas, lechuga, manzana, pera, papa, tomate, jitomates, chiles, uvas, zanahoria, caña de azúcar, palma aceitera, plátano entre otras (Marcela, 2010).

#### 4.3.11 *Burkholderia cepacia*

Se ubica taxonómicamente en el Reino: Bacteria, División: Proteobacteria, Clase: Betaproteobacteria, Orden: Burkholderiales, Familia: Burkholderiaceae, Género: *Burkholderia*, Especie: *B. cepacia* (Reinhold & Hurek, 2011).

Es una bacteria muy atractiva y de considerable atención por su versatilidad genética, apareciendo como patógeno de plantas, saprofítico, biorremediador y agente de biocontrol en cultivos de interés agrícola. Se destacan el aumento de la toma de agua y nutrientes por la planta, la producción de fitohormonas y el biocontrol de patógenos. Es una proteobacteria que se ha caracterizado por ser un efectivo controlador biológico, promotor de crecimiento vegetal; juega un papel importante en la descontaminación del suelo y aguas subterráneas, razón por la cual se le ha considerado como una buena alternativa en la biorremediación de suelos contaminados con pesticidas. Así mismo, se ha destacado la acción de *B. cepacia* como antagonista y represor de patógenos del suelo, como aquellos pertenecientes al género *Fusarium* spp., por medio de un mecanismo de antibiosis que desintegra el micelio del patógeno impidiendo su proliferación (Mantilla, 2007).

#### 4.3.12 Acido Naftalenacético (ANA)

Las auxinas intervienen en diferentes actividades de la planta como crecimiento del tallo, formación de raíces, inhibición de las yemas laterales, abscisión de hojas y frutos al igual que en

la activación de las células del cambium. Su principal efecto es la estimulación del alargamiento celular o su depresión según la concentración (Hernández, Aramendiz, & Cardona, 2005).

Uno de los estimulantes del enraizamiento es la auxina ácido indolbutírico (AIB), el cual tiene una actividad auxínica débil y los sistemas de enzimas destructores de auxinas la destruyen en forma relativamente lenta. Otra auxina excelente utilizada con frecuencia en la promoción de raíces es el ácido naftalenacético (ANA); sin embargo, este producto es más tóxico que el AIB y deben evitarse las concentraciones excesivas del mismo por el peligro de provocar daños en las células (Hernández *et al.*, 2005).

#### **4.4 Marco legal**

##### **4.4.1 Reglamento trabajo de grado**

El proyecto se regirá por la normatividad establecida por la Universidad de Pamplona la cual reglamenta las modalidades de trabajo de grado, en este caso se toma en cuenta las normas para investigación.

Acuerdo N°186 de la Universidad de Pamplona del 02 de diciembre del 2005.

Por el cual compila y actualiza el Reglamento Académico Estudiantil de Pregrado.

Artículo 35. Definición de trabajo de grado.

En el Plan de Estudios de los programas, la Universidad establece como requisito para la obtención del título profesional, la realización por parte del estudiante, de un trabajo especial que se denomina “TRABAJO DE GRADO”, por medio del cual se consolida en el estudiante su formación integral, que le permite: a. Diagnosticar problemas y necesidades, utilizando los conocimientos adquiridos en la Universidad. b. Acopiar y analizar la información para plantear

soluciones a problemas y necesidades específicas. c. Desarrollar planes y ejecutar proyectos, que le permitan demostrar su capacidad en la toma de decisiones. d. Formular y evaluar proyectos. e. Aplicar el Método Científico a todos los procesos de estudio y decisión.

#### Parágrafo Primero

El Trabajo de Grado, según sus características puede ser realizado en forma individual o en grupo. Corresponde al Comité de Trabajo de Grado autorizar que dos (2) o más estudiantes se integren para realizar uno solo.

#### Artículo 36 Modalidades de Trabajo de Grado.

El Trabajo de Grado, puede desarrollarse en:

Investigación: Comprende diseños y ejecución de proyectos que busquen aportar soluciones nuevas a problemas teóricos o prácticos, adecuar y apropiar tecnologías y validar conocimientos producidos en otros contextos. Para los estudiantes que se acojan a esta modalidad, deberá presentar al Director de Departamento el anteproyecto que debe contener: propuesta para la participación en una línea de investigación reconocida por la Universidad, tutor responsable del Trabajo de Grado y cronograma, previo estudio y aprobación de la misma, del respectivo Grupo de Investigación.

#### **4.4.1 Constitución Política de Colombia 1991**

Art.27 El estado garantiza las libertades de enseñanza, investigación y cátedra.

Art.67 La educación es un derecho de la persona y un servicio público que tiene una función social: con ella se busca el acceso al conocimiento, a la ciencia, a la técnica y a los demás bienes y valores de la cultura.

Art.69 Consagra la autoría universitaria, la cual es reglamentada por la ley 30 del 28 de Diciembre de 1982. (Art.3).

#### **4.4.2 Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural**

CONVENIO 495 DE 2015. Por medio del cual se busca articular esfuerzos entre las entidades involucradas con el fin de fomentar y coadyuvar el desarrollo del sector agropecuario, la agroindustria y el crecimiento del comercio, tanto en el ámbito nacional como internacional.

Resolución 000187 (31 de Julio del 2006) por la cual se adopta el reglamento para la producción primaria, procesamiento, empaçado, etiquetado, almacenamiento, certificación, importación, comercialización y se establece el sistema de control de productos agropecuarios ecológicos.

#### **4.4.3 Instituto Colombiano Agropecuario - ICA**

Resolución No. 00375 (27 de febrero de 2004). Por la cual se dictan las disposiciones sobre Registro y Control de los Bioinsumos y Extractos Vegetales de uso agrícola en Colombia.

#### **4.4.4 Norma Técnica Colombiana**

NTC 5167 - Productos para la industria agrícola. Productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas o acondicionadores de suelo

NTC 4422- 1 Bioinsumos para uso agrícola. Agentes biológicos para el control de plagas y enfermedades. Parte 1: producción

NTC 4422-2 Bioinsumos para uso agrícola. agentes biológicos para el control de plagas y enfermedades. parte 2: requisitos.

## **5. Metodología**

La presente investigación se desarrolló en los laboratorios de Sanidad Vegetal de la Universidad de Pamplona y en condiciones de campo naturalmente infestado con el patógeno *P. brassicae* en el municipio de Mutiscua (Norte de Santander) cumpliéndose los objetivos y actividades que se mencionan a continuación.

### 5.1 Comparación de la eficacia en condiciones de laboratorio con productos comerciales de *T. harzianum*, *B. subtilis* y *B. cepacia* para el control de *P. brassicae*.

Para obtener un inóculo del protozoo fitopatógeno se tomaron 10 g de raíces extraídas de las parcelas de brócoli mostrando síntomas típicos de hernia. Las raíces se picaron en pedazos de 2cm<sup>2</sup> se trituraron en una licuadora por un minuto con 200 ml de agua destilada y posteriormente se filtraron con gasa estéril para retirar las partes sólidas de las líquidas. Se obtuvo el material biológico de *P. brassicae* y se conservó en un refrigerador común como han sugerido Cruz et al. (2009).

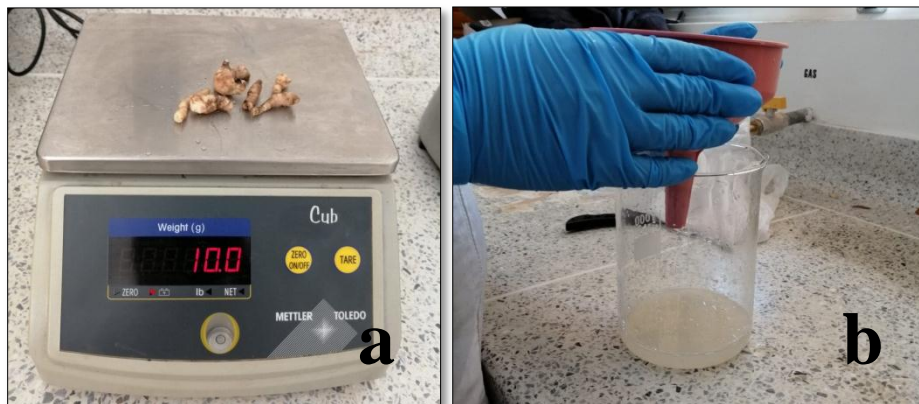


Figura 2. Proceso de extracción del patógeno. a) Peso de raíces con síntomas de hernia. b) Filtración del patógeno. (A. personal, 2019).

De esta forma se obtuvo un inóculo de quistes inactivos de *P. brassicae* para enfrentarlo a las suspensiones de los bioproductos.

Los bioinsumos comerciales utilizados para evaluar su efecto sobre el protozoo fueron los siguientes:

- *T. harzianum* (Trichox WP)

Es un producto con una composición garantizada de  $1 \times 10^8$  esporas/g, con registro de venta (ICA) 9121. Posee un porcentaje de pureza microbiológica  $\geq 95\%$ . Tiene una germinación: 95% a las 24 horas. Su pH oscila entre los 5,0 – 7,0. Humedad  $\leq 5\%$ . Dosis de 1cc/L de agua. Categoría toxicológica III – Moderadamente toxico.

Es un bioinsumo formulado con el hongo *T. harzianum* controla hongos fitopatógenos mediante parasitismo y antagonismo, estimula los mecanismos de defensa de las plantas y la resistencia sistemática, aumenta el vigor de las plantas y el volumen radicular, mejora el proceso fotosintético lo que incrementa la producción, estimula la proliferación de microorganismos benéficos en el suelo (Valle, 2016).

- *B. subtilis* (Bactox SL)

Es un producto con viabilidad de  $5 \times 10^9$  esporas/ml de producto. Contiene un porcentaje de pureza microbiológica: 95% - 98%. Su pH oscila entre 5,0 - 7,0. Registro de venta ICA 9824. Categoría toxicológica IV – Ligeramente tóxico.

Es un bioinsumo formulado con la bacteria *B. subtilis*, controla enfermedades causadas por hongos y bacterias, solubiliza fósforo, fija nitrógeno e induce la producción de hormonas de crecimiento vegetal, disminuye el estrés de la planta, optimiza el desempeño del cultivo, estimula la proliferación de microorganismos benéficos (Valle, 2016).

- *B. cepacia* (Botrycid SL)

Producto con base en cepas de la bacteria *B. cepacia*  $1 \times 10^8$  unidades formadoras de colonia por centímetro cúbico (UFC/cc), que inhiben el crecimiento y desarrollo de microorganismos fitopatógenos. Esta bacteria es endófito, coloniza el interior de los tejidos vegetales, estimulando su crecimiento, además, fija nitrógeno atmosférico, incrementa y modifica los pelos radiculares aumentando la capacidad de absorción de elementos nutritivos, registro ICA 6204, categoría toxicológica III – Moderadamente tóxico (Control, 2018).

Para el ensayo de laboratorio se utilizó un diseño completamente aleatorizado que consistió en el empleo de 28 cajas de Petri de 6 cm de diámetro previamente esterilizadas. Se implementaron 7 tratamientos cada uno con 4 repeticiones para un total de 28 cajas de Petri.

#### **Modelo matemático que rige un diseño completamente aleatorizado:**

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

**Dónde:**  $\mu$  es la media

$\tau_i$  : es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento

$e_{ij}$  : es la variación aleatoria del  $i$ -ésimo tratamiento y de la  $j$ -ésima observación o repetición (error experimental).

Los bioproductos comerciales en diferentes concentraciones se enfrentaron al patógeno comparando el resultado con la suspensión del testigo. Se probaron dos concentraciones 1/10 y 1/100 de cada bioproducto: *T. harzianum*, *B. subtilis* y *B. cepacia*.

Para preparar estas concentraciones se tomaron 2 ml del producto comercial y se diluyeron en 18 ml de agua destilada estéril y se obtuvo la concentración 1/10 y de esta concentración se tomaron 2 ml y se diluyeron en 18 ml de agua destilada estéril para obtener la concentración



1/100. Este procedimiento se realizó para todos los bioproductos. Seguido a esto se tomaron las cajas de Petri a las cuales se les añadió 4 ml de zumo de raíces y 2 ml de la suspensión microbiana en sus diferentes concentraciones según el tratamiento, y en cuanto al testigo se le suministro 6 ml del zumo de raíz.

### Tratamientos

1. Testigo
2. *B. subtilis* concentración 1/100
3. *B. subtilis* concentración 1/10
4. *B. cepacia* concentración 1/100
5. *B. cepacia* concentración 1/10
6. *T. harzianum* concentración 1/100
7. *T. harzianum* concentración 1/10

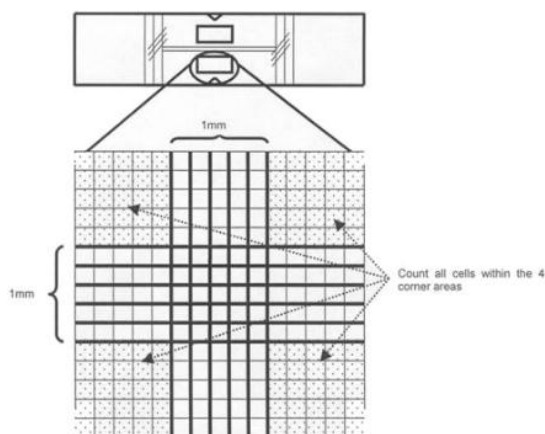


Figura 3. Tratamientos evaluados en laboratorio (A. personal, 2019).

Se realizaron observaciones microscópicas en cámara de Neubauer a los 3 y 7 días después de ser inoculados. Se utilizaron micropipetas para tomar 2 microlitros por tratamiento combinados con 1 ml de agua estéril para su posterior montaje con el fin de que esta estuviera a una concentración de 1/1000, el conteo de quistes consistió en tomar 4 cuadros generales los cuales contaban con 16 cuadrículas más pequeñas, para un total de 64 cuadrículas por unidad experimental. Las observaciones se realizaron con ayuda de un microscopio realizándose con el lente de ampliación de 40X. Se contaron el número de quistes sobrevivientes en los diferentes tratamientos, registraron en una base de datos.



*Figura 4.* Conteo de quistes inactivos en laboratorio (A. personal, 2019).



*Figura 5.* Cámaras de recuento (Focosi, 2014).

Para determinar la concentración de quistes se utilizó la fórmula:

$$CE = \frac{\text{Total de quistes contados}}{\text{Número de cuadrados}} \times 10000$$

Con la información obtenida de UFC/ml se hizo un análisis de varianza de un solo factor. Las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey con un 5% de probabilidad de error. Se empleó el paquete SPSS versión 21 para Windows.

**5.2. Determinación de la eficacia de alternativas que incluyen *T. harzianum*, *B. subtilis*, *B. cepacia* y combinadas con ácido naftalenacético (ANA) para el control de *P. brassicae* en coliflor bajo las condiciones de Mutiscua.**

La investigación se desarrolló en la finca La Aguadita con coordenadas N 7°18'20,4" W - 72°44'58.1", en la vereda Tapaguá del municipio de Mutiscua. En la cual se implementó el cultivo de coliflor en el periodo comprendido entre el 16 agosto al 28 de noviembre del 2019.



Figura 6. Coordenadas geográficas del cultivo (Google Earth, 2019).

## Diseño experimental

Se desarrolló una investigación experimental en coliflor empleando los tres antagonistas (*T. harzianum*, *B. subtilis* y *B. cepacia*), probados anteriormente en condiciones de laboratorio, fueron mezclados con el enraizador auxínico ANA (Hormonagro) comparados con la cal agrícola y un testigo sin tratamiento.

Los antagonistas que se emplearon en la prueba fueron los mismos bioproductos comerciales, evaluados en el laboratorio, así como el enraizador auxínico ANA (Hormonagro) (Colinagro, 2013).

Los productos utilizados para la investigación de campo fueron:

### *T. harzianum* (Trichox WP)

Es un producto con una composición garantizada de  $1 \times 10^8$  esporas/g, con registro de venta (ICA): 9121. Posee un porcentaje de pureza microbiológica  $\geq 95\%$ . Tiene una germinación: 95% a las 24 horas. Su pH oscila entre los 5,0 – 7,0. Humedad  $\leq 5\%$ . Dosis de 1cc/L de agua.

Categoría toxicológica III – Moderadamente toxico.

Es un bioinsumo formulado con el hongo *T. harzianum*. Controla hongos fitopatógenos mediante parasitismo y antagonismo, estimula los mecanismos de defensa de las plantas y la resistencia sistemática, aumenta el vigor de las plantas y el volumen radicular, mejora el proceso fotosintético lo que incrementa la producción, estimula la proliferación de microorganismos benéficos en el suelo (Valle, 2016).

### *B. subtilis* (Bactox SL)

Es un producto con viabilidad de  $5 \times 10^9$  esporas/ml de producto. Contiene un porcentaje de pureza microbiológica: 95% - 98%. Su pH oscila entre 5,0 - 7,0. Registro de venta ICA 9824. Categoría toxicológica IV – Ligeramente tóxico.

Es un bioinsumo formulado con la bacteria *B. subtilis*, controla enfermedades causadas por hongos y bacterias, solubiliza fósforo, fija nitrógeno e induce la producción de hormonas de crecimiento vegetal, disminuye el estrés de la planta, optimiza el desempeño del cultivo, estimula la proliferación de microorganismos benéficos (Valle, 2016).

#### *B. cepacia* (Botrycid)

Producto con base en cepas de la bacteria *B. cepacia*  $1 \times 10^8$  unidades formadoras de colonia por centímetro cúbico (UFC/cc), que inhiben el crecimiento y desarrollo de microorganismos fitopatógenos. Esta bacteria endófito, coloniza el interior de los tejidos vegetales, estimulando su crecimiento, además, fija nitrógeno atmosférico, incrementa y modifica los pelos radiculares aumentando la capacidad de absorción de elemento nutritivos, registro ICA 6204, categoría toxicológica III – Moderadamente tóxico (Control, 2018).

#### Ácido Naftalenacético (ANA) - HORMONAGRO - 1

Producto regulador de crecimiento vegetal con registro de venta (ICA) 1966. Es un concentrado soluble (SL) de categoría toxicológica III – Moderadamente tóxico. Dosis recomendada 15cc/20 Bomba de L.

Es un activador enzimático de los siguientes procesos fisiológicos en las plantas: Activa la división celular, regula la maduración, mantiene las semillas en un estado de germinación latente, promueve la emisión de raíces, la floración y la fructificación, evita la caída de botones, flores y frutos (Colinagro, 2013).

Se estableció el cultivo de coliflor con un diseño de bloques completos al azar, donde se implementaron 6 tratamientos, cada uno con 3 repeticiones, para un total de 18 parcelas (unidades experimentales) (Figura 7) de 10 m<sup>2</sup> cada una, para un total de 180 m<sup>2</sup>. La toma de datos se llevó semanalmente y se muestrearon 10 plantas al azar por unidad experimental.

El modelo matemático para esta investigación fue la siguiente:

$$Y_{ij} = m + t_i + r_j + e_{ij}$$

Dónde: m es la media

$t_i$  : es el efecto del i-ésimo tratamiento

$r_j$  : es el efecto de la j-ésima réplica o bloque

$e_{ij}$  : es la variación aleatoria del i-ésimo tratamiento y la j-ésima réplica (error experimental).

Repetición 3	Repetición 2	Repetición 1
T5	T6	T1
T3	T1	T6
T4	T3	T2
T2	T4	T5
T1	T5	T3
T6	T2	T4

Figura 7. Diseño de parcelas trabajado en campo (A. personal, 2019).

Tabla 1. *Tratamientos evaluados bajo las condiciones de Mutiscua. Fuente: A. personal, 2019.*

Tratamientos	Descripción
T1	<i>T. harzianum</i> + ANA
T2	<i>B. subtilis</i> + ANA
T3	<i>B. cepacia</i> + ANA
T4	ANA
T5	Cal
T6	Testigo

Se utilizaron las dosis de los productos comerciales recomendados por los proveedores. Se sembraron plántulas de coliflor variedad Bola de Nieve, cuya característica es su precocidad y su fácil adaptabilidad a condiciones medioambientales adversas (Mejia, 1998) provenientes de una plantuladora del municipio. El manejo agronómico y fitosanitario para los agentes diferentes a *P. brassicae* fue el mismo empleado por los agricultores de la zona.

Tabla 2. *Dosificación y frecuencia de aplicación empleadas en la investigación. Fuente: A. personal, 2019.*

Tratamientos	Composición garantizada	Dosis	Frecuencia de aplicación	Número de aplicaciones
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	1x10 <sup>8</sup> esporas/g	1 g/L 15 cc/Bomba 20L	8 días	Siembra. En adelante
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	5x10 <sup>9</sup> esporas/ml	1 cc/L 15 cc/Bomba 20L	8 días	Siembra. En adelante
3. <i>B. cepacia</i>	1x10 <sup>8</sup>	1 cc/L	8 días	Siembra.

+ ANA	UFC/cm <sup>3</sup>	15 cc/Bomba 20L		En adelante
4. ANA	17,2 g/L	15 cc/Bomba 20L	8 días	5
5. Cal	21.6% de Ca y 13.1% de Mg	1Ton/ha		
6. Testigo		Sin aplicaciones para el control de la enfermedad		

---

Fuente: Bioinsumos registrados ICA (Agosto, 2019)

### Forma de medición

#### Variables morfométricas

**Altura de la planta:** Se determinó midiendo desde la base del suelo, hasta el ápice de la última hoja.

**Diámetro del tallo:** Utilizando un calibrador digital (Pie de rey), se tomaron los diámetros de los tallos a cada una de las plantas.

**Numero de hojas:** Se llevó un conteo de hojas en las diez plantas seleccionadas al azar en cada una de las parcelas.

#### Incidencia de la enfermedad

Se llevó el registro de 10 plantas utilizando la fórmula que se presenta a continuación:

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{Número de plantas afectadas}}{\text{Número de plantas evaluadas}} \times 100$$

Lo registros empezaron 8 días después del trasplante y se determinó con una periodicidad de cada siete días.

#### Severidad de la enfermedad



Se evaluó el desarrollo de la enfermedad en el tiempo mediante una escala propuesta por Horiuchi y Ori (1980) y modificada por Strelkove et al. (2006).

Tabla 3. *Escala de severidad en el follaje de la planta afectadas por hernia Strelkove et al. (2006).*

Escala	Descripción
0	Planta sana
1	Síntomas en hojas, marchitez incipiente
2	Síntomas avanzados, amarillamiento en hojas, marchitez avanzada
3	Planta muerta

$$\text{Severidad (\%)} = \frac{\sum(nx0 + nx1 + nx2 + nx3)}{N \times 3} \times 100$$

Dónde:

n: es el número de plantas afectadas en los diferentes grados

N: es el número total de plantas en una unidad experimental

0, 1, 2, y 3: las clases de gravedad de los síntomas

**Incidencia en raíces:** Esta se determinó dos días después de la cosecha de cada una de las plantas evaluadas, aplicando la fórmula que se presentada anteriormente por observación visual de las deformaciones de las raíces.

$$\% \text{ Incidencia raíz} = \frac{\text{Número de raíces afectadas}}{\text{Número de raíces evaluadas/planta}} \times 100$$

**Severidad en raíces:** Se evaluó el desarrollo de la enfermedad mediante una escala propuesta por Horiuchi y Ori y modificada por Strelkove (2006).

El índice de enfermedad se calculó utilizando la formula descrita a continuación:

Tabla 4. *Escala de severidad en raíces afectadas por hernia. Fuente: Strelkove (2006).*

Escala	Descripción
0	Raíz sana
1	Hernias de tamaño pequeño, menos de un 25% de la raíz afectada.
2	Hernias de tamaño mediano en un 50% de la raíz.
3	Hernias de tamaño medio a gran tamaño en más del 50% de la raíz.

**Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE):** Al final del experimento se determinó en cada parcela según el método de Campbell y Madden (1990), para lo cual se utilizó la siguiente formula:

$$\text{ABCPE} = \sum [(X_i + X_{i+1})/2] * (T_{i+1} - T_i)$$

Dónde:

$X_i$  = distribución 1 o intensidad 1 de la enfermedad en el muestreo  $i$

$X_{i+1}$  = distribución o intensidad de la enfermedad en el muestreo  $i+1$

$T_i$  = tiempo 1

$T_{i+1}$  = tiempo 2

Las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey con un 5% de probabilidad de error.

Se empleó el paquete SPSS versión 21 para Windows.

## Rendimiento

En todos los experimentos se estimó la producción total por parcela y se estimaron el rendimiento t/ha. Para esto contamos las plantas que estaban en las unidades experimentales y sacamos el porcentaje de plantas/inflorescencia, después se pesaron 10 cabezas al azar por todas las parcelas y promediamos el peso en gramos. Con estos datos, se obtuvieron resultados como el peso promedio en 10 m<sup>2</sup> y un estimado de producción por hectárea.

### **5.3 Valoración del beneficio costo de las nuevas alternativas versus la tradicional y sin tratar**

Se realizaron los análisis necesarios para valorar la efectividad económica de cada tratamiento biológico u alternativo utilizando la metodología del incremento parcial recomendada por el CIMMYT (1988).

En la misma se simplifica el análisis y se intenciona la determinación del incremento del valor de la producción, una vez deducido el monto del costo de cada tratamiento biológico u alternativo sobre la variante testigo y la variante tradicional de cal.

Se planteó a partir de la siguiente formulación:

$$E = V_{ipn} - C_t$$

Dónde:

E = Efectividad económica

$V_{ipn}$  = Valor del incremento de la producción de las variantes nuevas (biológicas o alternativas).

$C_i$  = Costo adicional de la variante nueva, con respecto al testigo tradicional (variante cal), y sin tratamiento (testigo absoluto).

Para estimar los flujos de caja de cada tratamiento nuevo, se tuvo en cuenta un período de planificación de sesenta días condicionado por el tiempo en que se logra convertir la coliflor desde que se planta hasta que se cosecha.

Se tuvo en cuenta como costos de operación las siguientes partidas:

- Gastos de salario para los tratamientos fitosanitarios.
- Gastos de materiales directos por los tratamientos fundamentales, o sea, los incurridos con la cal, los biológicos alternativos y ANA.

Se consideraron todos los tratamientos que se realicen durante el ciclo del cultivo a partir de los precios de adquisición de los productos siguientes:

*T. harzianum* comercial

*B. subtilis* comercial

*B. cepacia* comercial

ANA comercial

Cal agrícola

Para cada tratamiento se tuvieron en cuenta la dosis recomendada en cada caso. El aumento del costo por salario en la atención fitosanitario a las posturas en las variantes con tratamiento se calculó como el incremento del valor monetario de la producción de la parcela en relación al tratamiento testigo para cada caso, así como su significación en valor.

Se tuvo en cuenta el precio de comercialización de la coliflor para finales de noviembre del presente año. Se obtuvieron los datos meteorológicos disponibles en la estación

agrometeorológicas del proyecto Plantar ubicada en el municipio Mutiscua, disponible en la Plataforma de este proyecto ubicada en el municipio de Cúcuta.

## 6. Resultados y análisis

### 6.1 Comparación de la eficacia en condiciones de laboratorio con cepas de *T. harzianum*, *B. subtilis* y *B. cepacia* para el control de *P. brassicae*.

En el primer conteo el tratamiento *T. harzianum* 1/100 y 10 (53,50 y 89,50 quistes) tuvo diferencia estadística con el testigo y con el tratamiento *B. subtilis* 1/10 con (230,50 quistes), aunque los valores relativos de *B. cepacia* en concentraciones 1/10 y 1/100 no difirieron estadísticamente con *T. harzianum* 1/100, mientras que en el segundo conteo hubo diferencia estadística entre el tratamiento *T. harzianum* 1/10 con (52,25 quistes) y el testigo, y los tratamientos *B. cepacia* 1/100 y *B. cepacia* 1/10 (471,00 y 468,00 quistes) (Tabla 5).

Tabla 5. Descripción de los resultados de laboratorio. Fuente: A. personal, 2019.

Tratamientos	Laboratorio	
	Conteo 3 día	Conteo 7 día
1. Testigo	192,25 ab	291,02 ab
2. <i>B. subtilis</i> 1/100	186,25 abc	182,00 bc
3. <i>B. subtilis</i> 1/10	230,50 a	335,00 ab
4. <i>B. cepacia</i> 1/100	113,75 bcd	471,00 a
5. <i>B. cepacia</i> 1/10	151,00 abcd	468,00 a
6. <i>T. harzianum</i> 1/100	53,50 d	233,25 bc
7. <i>T. harzianum</i> 1/10	89,50 cd	52,25 c
CV (%)	29,94	34,71
ET*	21,74	50,4

\*Letras desiguales en las columnas difieren para ( $P \leq 0,05$ ) por la prueba de Tukey.

Debido a los resultados obtenidos en laboratorio observación 3 y 7 en los días, se evidenció que *T. harzianum* con dosis 1/10 y 1/100 fueron efectivos contrarrestando el crecimiento de quistes inactivos de *P. brassicae*, esto se debe a que cuando el micoparásito hace contacto físico con su huésped, sus hifas se enrollan alrededor de este o se le adhieren por medio de estructuras especializadas. Observaciones al microscopio han permitido sugerir que *Trichoderma* spp. produce y secreta enzimas micolíticas responsables de la degradación parcial de la pared celular de su huésped. Algunos resultados que apoyan esta hipótesis han mostrado que *Trichoderma* spp. produce extra celularmente glucanasas, quitinasas, lipasas y proteasas (Velandia, Galindo & Avila, 1998).

## **6.2 Determinación de la eficacia de alternativas que incluyen *T. harzianum*, *B. subtilis*, *B. cepacia* combinadas con ácido naftalenacético (ANA) para el control de *P. brassicae* en coliflor bajo las condiciones de Mutiscua.**

### **Altura de la planta**

Durante la semana uno hubo diferencias estadísticas entre el tratamiento *T. harzianum* + ANA (10,11 cm) y el tratamiento ANA (8,08 cm). En la semana dos hubo diferencia estadística entre el tratamiento *T. harzianum* + ANA (11,25) y ANA (8,79 cm). En la semana tres hubo diferencia estadística entre los tratamientos *T. harzianum* + ANA y *B. subtilis* + ANA (14,05 cm y 11,87 cm) con respecto a los tratamientos *B. cepacia* + ANA (11,01 cm), ANA (11,53 cm), cal (12,41 cm), testigo (12,32 cm). En la semana cuatro no hubo diferencia estadística entre los tratamientos. En la semana cinco el tratamiento *T. harzianum* + ANA difirió con respecto a los demás tratamientos presentando la altura más alta (20,45 cm). De la semana seis a la siete no hubo diferencia estadística entre los tratamientos, sin embargo, los valores relativos más altos

durante estas semanas fue el tratamiento *T. harzianum* + ANA (20,71 cm y 23,18 cm). De la semana ocho a la once no hubo diferencia estadística entre los tratamientos, no obstante, para los valores relativos más altos durante estas semanas fue el tratamiento ANA (25,23 cm a 31,45cm) (Tabla 6).

Tabla 6. Descripción de los resultados en la variable altura de la planta. Fuente: A. personal, 2019.

Tratamientos	Altura (cm)										
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	10,11 a	11,25 a	14,05 a	16,79 a	20,45 a	20,71 a	23,18 a	24,83 a	25,56 a	26,46 a	30,06 a
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	9,29 ab	10,23 ab	11,87 a	15,04 a	17,87 ab	19,90 a	20,89 a	23,23 a	24,15 a	25,38 a	26,82 a
3. <i>B. cepacia</i> + ANA	8,63 ab	9,49 bc	11,01 b	13,95 a	17,90 ab	19,25 a	20,05 a	23,70 a	24,18 a	27,82 a	28,02 a
4. ANA	8,08 b	8,79 c	11,53 b	14,91 a	17,83 ab	20,22 a	20,93 a	25,23 a	26,65 a	29,16 a	31,45 a
5. Cal	9,49 ab	10,46 ab	12,41 b	15,58 a	18,43 ab	20,64 a	21,64 a	23,36 a	24,91 a	25,80 a	28,07 a
6. Testigo	8,51 ab	10,00 abc	12,32 b	14,14 a	17,50 b	20,08 a	21,45 a	23,46 a	23,95 a	24,84 a	24,93 a
CV (%)	7,09	4,98	4,42	8,02	5,45	10,12	9,18	14,9	15,38	14,28	12,26
ET*	0,37	0,28	0,31	0,69	0,57	0,1	1,13	2,06	2,21	2,19	1,99

\*Letras desiguales en las columnas difieren para ( $P \leq 0,05$ ) por la prueba de Tukey

### Diámetro del tallo

Durante la semana uno y dos no hubo diferencias estadística entre los tratamientos, sin embargo el valor relativo más altos para la semana uno fue *B. subtilis* + ANA (2,59 mm), y para la semana dos fue *T. harzianum* + ANA. En la semana tres hubo diferencia estadística entre el tratamiento *T. harzianum* + ANA y *B. subtilis* + ANA (4,42 mm y 4,25 mm) con respecto al

tratamiento de *B. cepacia* (3,46 mm). De la semana cuatro a la semana once no se presentó diferencia estadística entre los tratamientos, no obstante, los valores relativos más altos durante las semanas cuatro a la once fue el tratamiento *T. harzianum* + ANA (6,88 mm hasta 16,29 mm) (Tabla 7).

Tabla 7. Descripción de los resultados en la variable diámetro del tallo. Fuente: A. personal, 2019.

Tratamientos	Diámetro del tallo (mm)										
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	2,49 a	2,99 a	4,42 a	6,88 a	9,27 a	9,95 a	10,83 a	12,21 a	13,09 a	14,15 a	16,29 a
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	2,59 a	2,86 a	4,25 a	6,20 a	7,76 ab	9,28 a	9,98 a	10,88 a	11,66 a	12,90 a	13,82 a
3. <i>B. cepacia</i> + ANA	2,31 a	2,54 a	3,46 b	5,39 a	7,07 ab	8,20 a	9,11 a	10,26 a	11,42 a	12,47 a	13,69 a
4. ANA	2,20 a	2,50 a	3,58 ab	5,62 a	7,53 ab	8,76 a	9,93 a	11,07 a	12,15 a	13,10 a	14,88 a
5. Cal	2,51 a	2,93 a	4,24 ab	6,58 a	8,19 ab	9,76 a	10,34 a	11,15 a	12,60 a	12,86 a	14,05 a
6. Testigo	2,43 a	2,78 a	4,08 ab	5,44 a	8,41 ab	9,77 a	10,20 a	11,01 a	11,97 a	12,68 a	14,56 a
CV (%)	8,95	9,3	8,57	14,77	8,74	7,6	9	10,7	10,4	12,42	11,43
ET*	0,12	0,14	0,19	0,51	0,4	0,4	0,52	0,68	0,73	0,93	0,96

\*Letras desiguales en las columnas difieren para ( $P \leq 0,05$ ) por la prueba de Tukey

### Número de hojas

Durante la semana uno y dos no hubo diferencia estadística, sin embargo, los valores relativos absolutos del tratamiento Cal fueron mayores con (3,26 y 3,76 hojas). En la semana tres el tratamiento *T. harzianum* con (6,43 hojas) tuvo una diferencia estadística con respecto al



tratamiento ANA (5,43 hojas). Asimismo, los valores relativos del tratamiento *T. harzianum* fueron mayores desde la semana cuatro hasta la once con (7,60 hasta 11,81 hojas) (Tabla 8).

Tabla 8. Descripción de los resultados de la variable número de hojas. Fuente: A. personal, 2019.

Tratamientos	Número de hojas										
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	3,03 a	3,70 a	6,43 a	7,60 a	8,43 a	9,43 a	9,76 a	9,76 a	10,26 a	11,03 a	11,81 a
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	3,06 a	3,50 a	6,06 ab	7,40 a	7,50 a	8,60 a	8,76 a	9,33 a	9,56 a	9,83 a	10,23 a
3. <i>B. cepacia</i> + ANA	2,93 a	3,33 a	5,50 ab	6,80 a	7,33 a	8,53 a	9,10 a	9,70 a	9,80 a	10,13 a	10,73 a
4. ANA	2,86 a	3,06 a	5,43 b	6,90 a	7,66 a	8,53 a	9,33 a	9,70 a	10,00 a	10,16 a	11,13 a
5. Cal	3,26 a	3,76 a	6,16 ab	7,43 a	7,73 a	8,76 a	9,46 a	9,60 a	9,70 a	10,20 a	10,17 a
6. Testigo	2,86 a	3,46 a	6,01 ab	6,83 a	7,31 a	8,41 a	8,63 a	8,83 a	9,46 a	9,56 a	10,46 a
CV (%)	31,97	28,23	5,76	4,48	5,5	5,1	6,86	6,88	7,61	7,39	8,26
ET*	0,55	0,56	0,19	0,18	0,24	0,25	0,36	0,37	0,43	0,43	0,51

\*Letras desiguales en las columnas difieren para ( $P \leq 0,05$ ) por la prueba de Tukey

Aunque no siempre hubo una diferencia estadística significativa entre los tratamientos a lo largo de las semanas, se destacó la acción relativa que tuvo el tratamiento *T. harzianum* + ANA en comparación con los demás tratamientos empleados, influyendo favorablemente en el desarrollo del cultivo. Valdés (2014) menciona que el hongo antagonista *T. harzianum*, actúa como estimulador de crecimiento en múltiples cultivos. Existen numerosos reportes de la acción de *Trichoderma* spp. como estimulador de crecimiento en amplia gama de cultivos. Parets (2002) lo refiere como estimulador de crecimiento en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y papa

(*Solanum tuberosum* L.); así como en judía (*Phaseolus vulgaris* L.) y en papaya (*Carica papaya* L.).

### **Incidencia de la enfermedad (Follaje)**

Durante la semana cuatro no hubo diferencia estadística. En la semana cinco hubo diferencia estadística entre el tratamiento *T. harzianum* + ANA (0,60) y el tratamiento Cal (1,80), el resto de los tratamientos quedaron con valores intermedios entre los de estos dos. De la semana seis a la semana once no hubo diferencia estadística, sin embargo, en las semanas seis, ocho, nueve, y once el tratamiento *T. harzianum* + ANA reportó menores niveles relativos de incidencia (Tabla 9).

Tabla 9. *Porcentaje de incidencia de hernia en el follaje. Fuente: A. personal, 2019.*

Tratamientos	Incidencia de la enfermedad							
	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	0,200 a	0,60 b	1,31 a	1,87 a	2,21 a	2,43 a	2,84 a	2,84 a
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	0,200 a	1,32 ab	1,52 a	1,86 a	2,25 a	2,73 a	3,14 a	3,14 a
3. <i>B. cepacia</i> + ANA	0,200 a	1,24 ab	1,66 a	2,16 a	2,33 a	2,93 a	3,14 a	3,14 a
4. ANA	0,200 a	1,45 ab	1,66 a	2,01 a	2,39 a	2,73 a	2,93 a	3,14 a
5. Cal	0,200 a	1,80 a	1,87 a	2,25 a	2,46 a	2,63 a	2,73 a	3,14 a
6. Testigo	0,3589 a	1,38 ab	1,86 a	2,18 a	2,73 a	3,14 a	3,14 a	3,14 a
CV (%)	50,27	25,66	17,99	13,2	19,76	11,52	9,84	6,86
ET*	0,06	0,19	0,17	0,15	0,27	0,18	0,16	0,12

\*Letras desiguales en las columnas difieren para ( $P \leq 0,05$ ) por la prueba de Tukey.

### **Severidad de la enfermedad (Follaje)**

Durante la semana cuatro no hubo diferencia estadística. En la semana cinco hubo diferencia estadística entre el tratamiento *T. harzianum* + ANA (0,39) y el tratamiento Cal (0,94) el resto de los tratamientos quedaron con valores intermedios entre los de estos dos. De la semana seis a

la semana once no hubo diferencia estadística, no obstante, el tratamiento *T. harzianum* + ANA relató los menores niveles de severidad durante las semanas seis, ocho, nueve y diez (Tabla 10).

Tabla 10. *Porcentaje de severidad de hernia en el follaje. Fuente: A. personal, 2019.*

Tratamientos	Severidad follaje							
	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	0,200 a	0,39 b	0,73 a	0,97 a	1,07 a	1,18 a	1,29 a	1,32 a
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	0,200 a	0,74 ab	0,83 a	0,97 a	1,10 a	1,22 a	1,32 a	1,32 a
3. <i>B. cepacia</i> + ANA	0,200 a	0,70 ab	0,89 a	1,08 a	1,13 a	1,22 a	1,34 a	1,38 a
4. ANA	0,200 a	0,79 ab	0,89 a	1,03 a	1,10 a	1,27 a	1,31 a	1,38 a
5. Cal	0,200 a	0,94 a	0,97 a	1,10 a	1,13 a	1,22 a	1,36 a	1,43 a
6. Testigo	0,27 a	0,77 ab	0,97 a	1,08 a	1,20 a	1,27 a	1,41 a	1,50 a
CV (%)	25,77	20,43	14,3	9,1	10,12	4,43	7,8	7,18
ET*	0,03	0,08	0,07	0,05	0,06	0,03	0,06	0,05

\*Letras desiguales en las columnas difieren para ( $P \leq 0,05$ ) por la prueba de Tukey

### Severidad de raíces

Para la variable severidad en raíces hubo diferencia estadística entre el tratamiento *T. harzianum* + ANA y los tratamientos ANA y Testigo (84,17 y 87,54) respectivamente, el resto de los tratamientos quedaron intermedios entre estos desde el punto de vista estadístico (Tabla 11).

Tabla 11. *Porcentaje de severidad en raíces afectadas por hernia. Fuente: A. personal, 2019.*

Tratamientos	Severidad raíces
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	47,14 b
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	74,07 ab
3. <i>B. cepacia</i> + ANA	80,81 ab
4. ANA	84,17 a

5. Cal	77,44 ab
6. Testigo	87,54 a
CV (%)	17,05
ET*	7,4

\*Letras desiguales en las columnas difieren para ( $P \leq 0,05$ ) por la prueba de Tukey

### Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCP)

El ABCPE de *P. brassicae* en cultivo de coliflor en cuanto a incidencia tuvo diferencia estadística entre el tratamiento *T. harzianum* + ANA (2660,00) y el tratamiento Testigo (3686,66), el resto de los tratamientos quedaron intermedios entre estos. En cuanto a la variable ABCP Severidad los tratamientos no tuvieron diferencias estadísticas, sin embargo, el valor del tratamiento *T. harzianum* + ANA fue relativamente menor en comparación con los demás tratamientos (956,58) (Tabla 12).

Tabla 12. Porcentaje de incidencia y severidad en el ABCPE. Fuente: A. personal, 2019.

Tratamientos	Producción	
	ABCP Incidencia	ABCP Severidad
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	2660,00 b	956,58 a
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	3290,00 ab	1139,43 a
3. <i>B. cepacia</i> + ANA	3453,33 ab	1205,53 a
4. ANA	3406,66 ab	1213,33 a
5. Cal	3628,33 ab	1314,46 a
6. Testigo	3686,66 a	1333,90 a
CV (%)	11,04	12,76
ET*	214,16	88,07

\*Letras desiguales en las columnas difieren para ( $P \leq 0,05$ ) por la prueba de Tukey

Teniendo en consideración las tablas de incidencia, severidad y área bajo la curva, se puede afirmar que en algunos casos hubo superioridad para el tratamiento de *T. harzianum* + ANA y en

la mayoría de los casos en que no hubo diferencias estadísticas significativas a lo largo de la semanas, el tratamiento de *T. harzianum* + ANA se destacó de los demás teniendo menores resultados relativos en las variables descritas anteriormente, corroborando las afirmaciones de (Labrador, Pozo, & García, 2013) sobre la efectividad de especies del género *Trichoderma* como antagonista de los patógenos vegetales, fundamentalmente sobre aquellos que viven en el suelo como *Plasmodiophora* y otros tales como *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Fusarium*, y *Phytophthora* logrando reducir la severidad de la enfermedad sobre el sistema radical de la planta.

## pH

En el pH de los tratamientos no hubo diferencia estadística, observando que las escalas encontraban por debajo de un pH neutro, impidiendo reducir significativamente el porcentaje de incidencia y severidad de hernia de las crucíferas, tal como lo afirma Heinrich y Stone (2014), quienes demostraron que tener un pH de 7,1 en los suelos, reduce la infección, pero no elimina el patógeno (Pinzón, 2012) (Tabla 13).

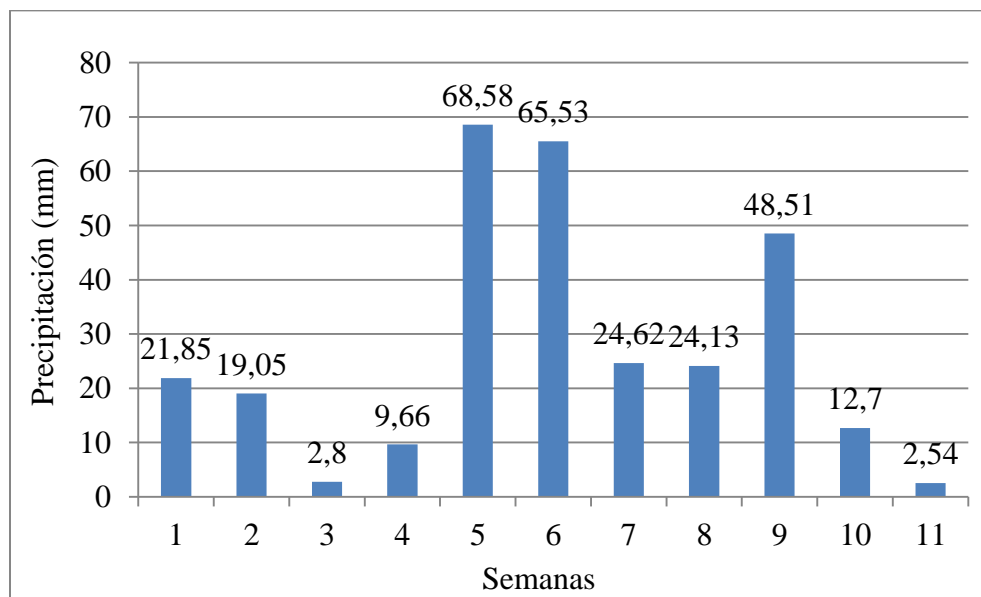
Tabla 13. Escala de pH tomado de las unidades experimentales. Fuente: A. personal, 2019.

Tratamientos	pH
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	6,73 a
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	6,80 a
3. <i>B. cepacia</i> + ANA	6,73 a
4. ANA	6,86 a
5. Cal	6,73 a
6. Testigo	6,70 a
CV (%)	1,55
ET*	0,06

\*Letras desiguales en las columnas difieren para ( $P \leq 0,05$ ) por la prueba de Tukey

### Precipitación durante el ciclo del cultivo

Debido a las condiciones climáticas del municipio de Mutiscua, las precipitaciones aumentaron en la semana cinco y seis (68,58 y 65,53 mm), propiciando directamente el crecimiento de la dinámica poblacional de la enfermedad en el cultivo, causando daños irreversibles en el estado fisiológico de las plantas de coliflor, lo que genera interferencia con la absorción y translocación de nutrientes, minerales y agua a través del sistema radicular (Agrios, 2005). Investigadores del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA, 2012) afirman que la diseminación del patógeno se ve favorecida especialmente en aquellas zonas alimentadas por agua lluvia y escurrimiento, lo que hace que las esporas en reposo se activen e invadan los cultivos.



*Figura 8.* Distribución de las precipitaciones por semana muestreada. Fuente: Estación meteorológica del Proyecto Plantar en Mutiscua.

### 6.3 Valoración del beneficio costo de las nuevas alternativas versus la tradicional y sin tratar.

## Productividad

En la tabla de producción se muestra el porcentaje promedio de plantas productivas por las tres unidades experimentales, que aunque no haya tenido diferencias estadísticas, la proporción relativa del tratamiento *T. harzianum* + ANA difirió entre los otros tratamientos, mientras que en la variable peso de la cabeza hubo diferencia estadística entre el tratamiento *T. harzianum* + ANA (401,00 g) y los tratamientos ANA y Testigo (208,66 g y 164,33 g) (Tabla 14).

Tabla 14. Descripción del porcentaje promedio en producción del cultivo. Fuente: A. personal, 2019.

Tratamientos	Producción	
	% Plantas productivas	Peso promedio/Cabeza (g)
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	80,00 a	401,00 a
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	58,33 a	321,66 ab
3. <i>B. cepacia</i> + ANA	61,66 a	254,33 ab
4. ANA	56,66 a	208,66 b
5. Cal	56,66 a	259,33 ab
6. Testigo	58,33 a	164,33 b
CV (%)	14,6	23,49
ET*	5,23	36,43

\*Letras desiguales en las columnas difieren para ( $P \leq 0,05$ ) por la prueba de Tukey

El tratamiento con un mayor índice de producción fue *T. harzianum* + ANA destacándose de los demás tratamientos con una producción de 20 kg/10m<sup>2</sup>, seguido por *B. subtilis* + ANA con una producción de 11,6 kg/10m<sup>2</sup> y por último los tratamientos *B. cepacia* + ANA y cal no difirieron significativamente en la producción con un rendimiento de (9,7 y 9,07 kg/10 m<sup>2</sup>) (Tabla 15).

Tabla 15. Descripción del rendimiento promedio del cultivo. Fuente: A. personal, 2019.

Tratamientos	Rendimiento (kg)/m <sup>2</sup>	Rendimiento (kg)/10 m <sup>2</sup>	Ton/ha
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	2,005	20,05	20,05
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	1,166	11,66	11,66

3. <i>B. cepacia</i> + ANA	0,97	9,7	9,7
4. ANA	0,73	7,3	7,3
5. Cal	0,907	9,07	9,07
6. Testigo	0,595	5,95	5,95

El tratamiento que generó los mejores ingresos fue *T. harzianum* + ANA con una ganancia de \$82,126 en comparación con los demás tratamientos, el tratamiento Cal fue el segundo mejor con una ganancias de \$61,312. No obstante, los tratamientos que menor ganancia fueron *B. cepacia* + ANA, *B. subtilis* + ANA (Tabla 16).

Tabla 16. Descripción de costo beneficio generado por el cultivo expresado en pesos Colombianos. Fuente: A. personal, 2019.

Tratamientos	Ingresos	Gastos	Ganancias	Cal	Testigo
1. <i>T. harzianum</i> + ANA	125,000	42,874	82,126	20,814	40,606
2. <i>B. subtilis</i> + ANA	90,625	49,894	40,731	-20,581	-0,789
3. <i>B. cepacia</i> + ANA	95,312	66,880	28,432	-32,880	-13,088
4. ANA	87,500	41,750	45,750	-15,562	4,230
5. Cal	87,500	26,188	61,312	----	19,792
6. Testigo	54,000	12,480	41,520	19,792	----

El análisis realizado a las inflorescencias comercializables mostraron diferencias significativas en el costo - beneficio para el establecimiento y producción de este cultivo, sin embargo, se puede resaltar el buen precio en el que encuentra la coliflor en la ciudad de Bucaramanga, a la cual se le lleva en cajas con promedio de 12 cabezas, permitiendo obtener mayores ganancias para los agricultores a finales del mes de noviembre. En los gastos se tuvieron en cuenta la compra de las plántulas, cal, hormonagro (ANA), bioproductos, la preparación del terreno y los jornales expresados en horas de trabajo.



## 7. Conclusiones

La aplicación de productos biológicos como *T. harzianum* bajo condiciones controladas de laboratorio demostró el potencial biocontrolador del antagonista y lo sugiere como buena alternativa de control en quistes inactivos de hernia de las crucíferas debido a su efecto in vitro.

La utilización de productos biológicos como (*T. harzianum*) combinados con reguladores de crecimiento (ANA) no detiene de forma curativa la enfermedad hernia de las crucíferas, sin embargo, genera buenos comportamientos en variables morfométricas y en la severidad de la enfermedad en raíces, notando leves grados de afectación de este parasito obligado.

Las frecuentes precipitaciones incrementan directamente en el desarrollo de la enfermedad, debido que favorece las condiciones de humedad en el suelo, adecuados para que el patógeno se propague y encuentre otros huéspedes para desarrollar su ciclo biológico, interfiriendo así el efecto de los antagonistas.

El pH del suelo no se elevó lo suficiente para inhibir la propagación de este protozoo en el cultivo, por lo que pudo favorecer el crecimiento de esporas latentes contenidas en el suelo.

Los indicadores económicos obtenidos con la aplicación del hongo *T. harzianum* + ANA resultaron favorables, con una relación costo-beneficio cuyo valor vario dependiendo de los productos aplicados, seguido por la cal que, aunque con poca efectividad resulta la alternativa más barata.

## 8. Recomendaciones

Realizar un análisis químico y microbiológico para determinar las condiciones en las que se encuentra el suelo, antes de establecer los cultivos de las crucíferas bajo estas condiciones.

Preparar el suelo con 15-20 días de anterioridad teniendo en cuenta la incorporación de enmiendas agrícolas como Cal que regulan el pH, ayudan a un manejo preventivo de la enfermedad.

Continuar las investigaciones de *T. harzianum* combinados con reguladores de crecimiento (ANA) para el control de la hernia bajo estas condiciones, profundizando en tipo de especie de crucífera, cepas nativas del antagonista con mayor nivel de adaptación y condiciones ambientales que pueden favorecer o no su eficacia.

Es importante tener en cuenta las labores culturales como la eliminación de residuos de cosecha anteriores y la rotación de cultivos con especies diferentes tales como leguminosas (frijol, arveja, haba, habichuela) y cereales (maíz, pastos) u otras hortalizas (apio, remolacha, cebolla, cilantro).

En investigaciones futuras, hacer comparaciones con dosis más altas de estos productos biológicos para obtener la eficacia esperada de estos tratamientos amigables con el medio ambiente.

## 9. Bibliografía

- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. Elsevier.
- Ariza, Y., & Sanchez, L. (2012). *Determinación de metabolitos secundarios a partir de Bacillus subtilis con efecto biocontrolador sobre Fusarium sp.* Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas 10 (18),135 – 250. “Recuperado el 20 de Junio del 2019”, de [https://www.researchgate.net/publication/316651734\\_Determinacion\\_de\\_metabolitos\\_secundarios\\_a\\_partir\\_de\\_Bacillus\\_subtilis\\_con\\_efecto\\_biocontrolador\\_sobre\\_Fusarium\\_sp](https://www.researchgate.net/publication/316651734_Determinacion_de_metabolitos_secundarios_a_partir_de_Bacillus_subtilis_con_efecto_biocontrolador_sobre_Fusarium_sp)
- B. Reinhold, Hurek, T. (2011). Living inside plants: bacterial endophytes Curr. Opin. Plant Biol., 14 435-443
- Botero, A. (2016). Effect of three Trichoderma species on clubroot disease in cabbage. Universidad Nacional de Colombia Tesis para obtener el grado de magister en Ciencias agrarias. Faculty of Agricultural Sciences, Agronomy Department. “Recuperado el 20 de Junio del 2019”, de <http://bdigital.unal.edu.co/53648/1/andreaboteroramirez.2016.pdf>
- Castillo, J., & Guerrero, O. (2008). Efecto de controladores biológicos sobre hernia de las crucíferas en Tabio, Cundinamarca. *INVENTUM*, 1-11.
- Castro, A. y Rivillas, C. R. (2012). *Trichoderma spp. Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café*. Cenicafe. Boletín técnico 38. 31p.” Recuperado el 20 de Junio del 2019”, de [https://www.cenicafe.org/es/publications/Boletin\\_38\\_FINAL2014.pdf](https://www.cenicafe.org/es/publications/Boletin_38_FINAL2014.pdf)
- CIMMYT. (1988). La formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: un manual metodológico de evaluación económica. CIMMYT, MEX.
- Colinagro. (2013). *Colinagro - Logrando agricultores exitosos*. “Recuperado el 25 de Noviembre del 2019”, de <http://recintodelpensamiento.com/ComiteCafeteros/HojasSeguridad/Files/Fichas/FTHormonagro201462883429.pdf>
- CONSORNOC. (2010). *Corporación Nueva Sociedad de la Región Nororiental de Colombia*. "Recuperado el 20 de Junio del 2019", de [http://consornoc.org.co/wp-content/uploads/2014/11/cartilla-mutiscua\\_1.pdf](http://consornoc.org.co/wp-content/uploads/2014/11/cartilla-mutiscua_1.pdf)
- Control, N. (2018). *Agrofertas*. Recuperado el 25 de Noviembre del 2019, de <https://agrofertas.co/>
- Cotrina, F. (2003). Cultivo de la coliflor. Hojas Divulgadoras del Ministerio de Agricultura y Pesca. España. 28 p. “Recuperado el 25 de Noviembre del 2019”, de [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1981\\_21.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1981_21.pdf)

- Cruz, J.C.S.; Souza, N.L.; Padovani, C.R.; Furtado, E.L. (2009). Preservação do inóculo de *Plasmodiophora brassicae* utilizando o método de congelamento. *Summa Phytopathologica*, 35, (1), 57-59.
- Cruz, J.C.S.; Souza, N.L.; Nakatani A.K. , Rosa D.D., Marco Antonio Basseto M.A., Padovani C.R. 3 & Edson Luiz Furtado E.L. (2008) Caracterização patogênica e molecular de *Plasmodiophora brassicae* *Tropical Plant Pathology*, 33 (6), 415-424.
- Donald, E. C.; Lawrence, J. M.; Porter, I. J. (2004). Influence of particle size and application method on the efficacy of calcium cyanamide for control of clubroot of vegetable brassicas. *Crop Protection*, London, 23, (4),297-303
- Doncel M, P., & Cordero, A. (2017). *Burkholderia cepacia* aisladas de variedades de ñame con actividad antimicrobiana contra *Colletotrichum gloeosporioides*. *Rev Colombiana Cienc Animal*; 9 (Supl):31-38. “Recuperado el 20 de Junio del 2019”, de [https://www.researchgate.net/publication/316770582\\_Burkholderia\\_cepacia\\_aisladas\\_de\\_variedades\\_de\\_name\\_con\\_actividad\\_antimicrobiana\\_contra\\_Colletotrichum\\_gloeosporioides](https://www.researchgate.net/publication/316770582_Burkholderia_cepacia_aisladas_de_variedades_de_name_con_actividad_antimicrobiana_contra_Colletotrichum_gloeosporioides)
- Ecoagro. (2014). Ficha técnica de fortiraiz (En línea). Disponible en <http://ecoagro-ec.com/producto/12/forti-raiz>.
- Edmond, J.B. (1984) Principios de horticultura. Reimpresión.. San José Costa Rica.387p.
- Focosi, D. (2014). *Biomodel*. “Recuperado el 25 de Noviembre del 2019”, de <http://biomodel.uah.es/tecnicas/cel/hemocitometro.htm>
- Florez, R. (2012). 2.7 Crucíferas (Brócoli, coliflor, repollo y col de bruselas). En H. P. Ramírez, *Manual para el cultivo de hortalizas* (págs. 1-29). Bogotá: Produmedios.
- Galán, C. (2007). *Bacillus subtilis*. Departamento de Microbiología. Universidad de Valencia. Comunidad Valenciana – España. 3p. “Recuperado el 25 de Noviembre del 2019”, de <http://tubiologia.foroactivo.net/t338-bacillus-subtilis>
- Galdames, R. (2017). *Hernia o “clubroot” del raps*. Ficha tecnica 91. INIA. Chile. “Recuperado el 20 de Junio del 2019”, de <http://www.inia.cl/wp-content/uploads/FichasTecnicasSanidadVegetal/Ficha%2091%20Hernia%20o%20clubroot%20del%20raps.pdf>
- Gossen, B. D. Strelkov, S. E. S. E. Manolii, S. E. Rennie, D. C. D. C. Cao, D. C. D. C.. Hwang, D. C. Peng, G. & McDonald M. R (2015). Spread of *Plasmodiophora brassicae* on canola in Canada, 2003–2014: Old pathogen, new home, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 37:4, 403-413, DOI: 10.1080/07060661.2015.1105871
- Guenko, G. (1983) Fundamentos de horticultura cubana . Editorial Pueblo y Educación. La Habana Cuba.
- Heinrich, A., & Stone, A. (2014). *Clubroot (Plasmodiophora brassicae ) control strategies on brassicas*, 2(541), 1–20. “Recuperado el 20 de Junio del 2019”, de

- [http://horticulture.oregonstate.edu/system/files/Clubroot final report%20Heinrich Stone .pdf](http://horticulture.oregonstate.edu/system/files/Clubroot_final_report%20Heinrich%20Stone.pdf)
- Hermosa, M. (2017). *Trichoderma* un agente de control biológico que ayuda a las plantas a tomar desiciones correctas. *Farmajournal*, 2, 2.
- Hernández, J., Aramendiz, H., & Cardona, C. (2005). INFLUENCIA DEL ACIDO INDOLBUTIRICO Y ACIDO NAFTALENOACETICO SOBRE EL ENRAIZAMIENTO DE ESQUEJES DE CAÑA FLECHA (*Gynerium sagittatum* Aubl.). *Temas Agrarios*, 1-9.
- Horiuchi S, Hori M. 1980. A simple greenhouse technique for obtaining high levels of clubroot incidence. *Bull Chugoku Natl Agric Exp Stn E (Environ Div)*. 17:33–55
- ICA. (2012). Manejo fitosanitario del cultivo de hortalizas, medidas para la temporada invernal. Instituto Colombiano Agropecuario, Cundinamarca. Bogotá: Camilo Ernesto Vásquez Gonzáles. “Recuperado el 20 de Junio del 2019”, de <https://www.ica.gov.co/getattachment/bb883b42-80da-4ae5-851f-4db05edf581b/Manejo-fitosanitario-del-cultivo-de-hortalizas.aspx>.
- Infante, D., Martínez, B., González, N., y Reyes, Y. (2009): Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Rev. Protección Veg.* 1 14-21
- Intagri. (2014). *Trichoderma*, control de hongos fitopatógenos. México: Copyringth. “Recuperado el 20 de Junio del 2019”, de <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/trichoderma-control-de-hongos-fitopatogenos>.
- Kageyama, K. y Asano, T. (2009). Life Cycle of *Plasmodiophora brassicae*. *Plant Growth Regul* 28:203–211 DOI 10.1007/s00344-009-9101-z
- Labrador, M., Pozo, E. d., & García, I. (2013). Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Plasmodiophora brassicae* Woronin, en brócoli, en la localidad de Escagüey, municipio Rangel, estado Mérida. *Centro Agrícolas*, 1-6.
- López-Ferrer U.C., Hortensia Brito-Vega H. , López-Morales D., Salaya-Domínguez J.M. and Gómez-Méndez E. (2017). Papel de *Trichoderma* en los sistemas agroforestales cacaotal como un agente antagónico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20 (2017): 91 - 100
- Mantilla, E. (2007). Evaluación de la acción de un bioinoculante sobre un cultivo de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* var. yoco ono) en periodo de enraizamiento. Colombia. Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Microbiología Agrícola y Veterinaria. 127 p.
- Marcela, I. (Abril de 2010). *Bacillus subtilis*. “Recuperado el 21 de Junio del 2019”, de <http://bacillus8.blogspot.com/>

- Mejia, V. (1998). *Agrosavia*. “Recuperado el 21 de Junio del 2019”, de [https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/20929/22909\\_4030.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/20929/22909_4030.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Niwa R. Kumei T. Nomura Y, Yoshida, S. Osaki M., Ezawa T. (2007). Increase in soil pH due Ca-rich organic matter application causes suppression of the clubroot disease of crucifers. *Soil Biology & Biochemistry*, St. Louis, 39, (3),778-785.
- Pengjie, H., Wenyan, C., Shahzad, M., Xingyu, L., Yixin, W., Xumang, Y., Yueqiu, H. (2019). *Plasmodiophora brassicae* root hair interaction and control by *Bacillus subtilis* XF-1 in Chinese cabbage. “Recuperado el 21 de Junio del 2019”, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964418304456#!>
- Pérez, Y., Castellanos, L., y Almarales, M. (2010). Manejo Integrado de nemátodos (*Meloidogyne* spp.) para hortalizas en casas de cultivos protegidos. Tesis para obtener el grado de master en Agricultura sostenible. Universidad de Cienfuegos. DOI: 10.13140/RG.2.2.23148.26244
- Strelkov, S. E., Tewari, J. P., & Smith-Degenhardt, E. (2006). Characterization of *Plasmodiophora brassicae* populations from Alberta, Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 28, 467–474.
- Tamayo, P.J y Jaramillo, J.E. (2004). Enfermedades de las crucíferas en Colombia. Centro de Investigación "La Selva" Rionegro Antioquia. Corpoica. Colombia.
- Tanaka, S Kochi, S, Kunita, H., Ito, S. (1999). Biological mode of action of the fungicide, flusulfamide, against *Plasmodiophora brassicae* (clubroot). *European Journal of Plant Pathology*, Netherlands, v. 105, (6):577-584, 1999.
- Telenchana N Y. (2015). Aplicación de productos sello verde en el manejo de la hernia de las crucíferas (*Plasmodiophora brassicae*) en el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *avenger*), en las condiciones agroecológicas de Izamba. Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Técnica de Ambato.
- Toledo, Y., Hernández, A., Alvarez, M., Martín, G. M., & Márquez, R. (2002). Determinación del efecto antagónico de un biopreparado a partir de una cepa de *Burkholderia cepacia* ante *Fusarium* sp. en el cultivo del gladiolo (*Gladiolus* sp.). *Cultivos Tropicales*, 23, (4), 11-15. “Recuperado el 21 de Junio del 2019”, de <https://www.redalyc.org/html/1932/193218135002/>
- Valadez, A. (1993). Producción de Hortalizas. Editorial LIMUSA S.A. México DF, Pp. 149 – 163.
- Valadez, L. A (1992) producción de hortalizas, Editorial Limusa S:A: Segunda Reimpresión. México, D.F.298 p.
- Valdés, E. (2014). Caracteres principales, ventajas beneficios agrícolas que aporta el uso de *Trichoderma* como control biológico. *Agroecosistemas*, 2(1:254-264,2014), 11. doi:40-40-1-PB

- Valle, S. (2016). *Semillas Valle*. “Recuperado el 25 de Noviembre del 2019”, de <http://semillasvalle.com/site/archivos/pdf/trichox/ficha-tecnica-trichox-wp.pdf>
- Velandia, J. (1992). Evaluación de cinco niveles de cal apagada en el control de *Plasmidiophora brassicae* en repollo Bola Verde. Informe Anual de Actividades, Sección de Hortalizas, ICA-TIBAITATA. pp. 7-11. Bogotá. Colombia
- Velandia, J., Galindo, R. & Avila, C. (1998). Evaluación de la Gallinaza en el Control de *Plasmidiophora brassicae* en repollo. Revista de Agronomía Colombiana. XV (1),1 – 6. “Recuperado el 21 de Junio del 2019”, de <http://www.controlbiologicochile.cl/content/view/33/130/>
- Villegas , M. A. (2015). *Trichoderma Pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible*. “Recuperado el 21 de Junio del 2019”, de [https://www.oriusbiotech.com/escrito?nom=Trichoderma\\_pers.\\_Caracter%C3%ADsticas\\_generales\\_y\\_su\\_potencial\\_biol%C3%B3gico\\_en\\_la\\_agricultura\\_sostenible](https://www.oriusbiotech.com/escrito?nom=Trichoderma_pers._Caracter%C3%ADsticas_generales_y_su_potencial_biol%C3%B3gico_en_la_agricultura_sostenible).
- Zamora, E. (2016). El cultivo de la coliflor . Serie guías - producción de hortalizas DAG/HORT-013. Universidad de Sonora. “Recuperado el 21 de Junio del 2019”, de [http://www.dagus.uson.mx/Zamora/COLIFLOR-DAG-HORT-013.pdf?fbclid=IwAR1AbRyFzUagnthfg9umehJBwrxE1\\_DRbEN6WAWNgCGVcThZqoBCPaP6-JI](http://www.dagus.uson.mx/Zamora/COLIFLOR-DAG-HORT-013.pdf?fbclid=IwAR1AbRyFzUagnthfg9umehJBwrxE1_DRbEN6WAWNgCGVcThZqoBCPaP6-JI)

## 10. Anexos



Anexo 1. Delimitación de las parcelas experimentales (A. personal, 2019).



Anexo 2. Aplicación de productos biológicos a plántulas antes de la siembra (A. personal, 2019).





Anexo 3. Aplicación de productos biológicos al suelo y sitio definitivo (A. personal, 2019).



Anexo 4. Aplicación de productos biológicos durante su desarrollo fenológico (A. personal, 2019).



Anexo 5. Toma de variables morfométricas (A. personal, 2019).



Anexo 6. Síntoma de hernia de las crucíferas en el follaje (A. personal, 2019).



Anexo 7. Síntomas en campo de hernia de las crucíferas en las raíces (A. personal, 2019).



Anexo 8. Afectaciones en raíces ocasionadas por hernia (A. personal, 2019).



Anexo 9. Toma de pH en las unidades experimentales (A. personal, 2019).