

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
LICENCIATURA EN AGRONOMÍA

**EVALUACIÓN DE DOS HONGOS ANTAGÓNICOS PARA EL CONTROL DE LA PUDRICIÓN BLANCA
DE LA CEBOLLA (*Sclerotium cepivorum*) EN CONDICIONES *in vitro*.**

TESIS DE GRADO

JONAS DAVID CASTELLANOS MORENO

CARNET 980604-72

QUETZALTENANGO, OCTUBRE DE 2020
CAMPUS DE QUETZALTENANGO

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
LICENCIATURA EN AGRONOMÍA

**EVALUACIÓN DE DOS HONGOS ANTAGÓNICOS PARA EL CONTROL DE LA PUDRICIÓN BLANCA
DE LA CEBOLLA (*Sclerotium cepivorum*) EN CONDICIONES *in vitro*.**

TESIS DE GRADO

TRABAJO PRESENTADO AL CONSEJO DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

POR
JONAS DAVID CASTELLANOS MORENO

PREVIO A CONFERÍRSELE

EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO

QUETZALTENANGO, OCTUBRE DE 2020
CAMPUS DE QUETZALTENANGO

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR

RECTOR: P. MARCO TULIO MARTÍNEZ SALAZAR, S. J.
VICERRECTORA ACADÉMICA: MGTR. LESBIA CAROLINA ROCA RUANO
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y PROYECCIÓN: LIC. JOSÉ ALEJANDRO ARÉVALO ALBUREZ
VICERRECTOR DE INTEGRACIÓN UNIVERSITARIA: P. LUIS CARLOS TORO HILTON, S. J.
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO: MGTR. JOSÉ FEDERICO LINARES MARTÍNEZ
SECRETARIO GENERAL: DR. LARRY AMILCAR ANDRADE - ABULARACH

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

DECANA: LIC. ANNA CRISTINA BAILEY HERNÁNDEZ
VICEDECANO: MGTR. LUIS MOISES PEÑATE MUNGUÍA
SECRETARIO: MGTR. JULIO ROBERTO GARCÍA MORÁN
DIRECTORA DE CARRERA: MGTR. EDNA LUCÍA DE LOURDES ESPAÑA RODRÍGUEZ

NOMBRE DEL ASESOR DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

ING. ROBERTO ANTONIO MORALES LIMA

TERNA QUE PRACTICÓ LA EVALUACIÓN

ING. MIGUEL MANUEL OSORIO LÓPEZ



AUTORIDADES DEL CAMPUS DE QUETZALTENANGO

DIRECTOR DE CAMPUS: P. MYNOR RODOLFO PINTO SOLIS, S.J.

SUBDIRECTORA ACADÉMICA: MGTR. NIVIA DEL ROSARIO CALDERÓN

SUBDIRECTORA DE INTEGRACIÓN
UNIVERSITARIA: MGTR. MAGALY MARIA SAENZ GUTIERREZ

SUBDIRECTOR ADMINISTRATIVO: MGTR. ALBERTO AXT RODRÍGUEZ

SUBDIRECTOR DE GESTIÓN GENERAL: MGTR. CÉSAR RICARDO BARRERA LÓPEZ

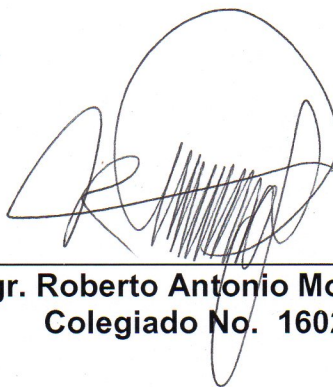
Quetzaltenango, 15 de marzo de 2014

Honorable Consejo
Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas
Universidad Rafael Landívar

Distinguidos Miembros del Consejo:

Por este medio hago constar que he revisado el informe Final de Tesis del estudiante: JONAS DAVID CASTELLANOS MORENO, con carné No.98060472, titulado: " **EVALUACION DE DOS HONGOS ANTAGONICOS EN EL CONTROL DE LA PUDRICIÓN BLANCA *Sclerotium cepivorum (Mycelia Sterilla)* EN CEBOLLA (*Allium cepa: Alliaceae*) IN VITRO EN QUETZALTENANGO, GUATEMALA**", el cual considero que cumple con los requisitos establecidos por la facultad para ser aprobado, por lo que solicito sea revisado por la terna que designe el Honorable Consejo de Facultad, previo a su autorización de impresión.

Deferentemente



Ing. Agr. Roberto Antonio Morales Lima
Colegiado No. 1602



Orden de Impresión

De acuerdo a la aprobación de la Evaluación del Trabajo de Graduación en la variante Tesis de Grado del estudiante JONAS DAVID CASTELLANOS MORENO, Carnet 980604-72 en la carrera LICENCIATURA EN AGRONOMÍA, del Campus de Quetzaltenango, que consta en el Acta No. 06198-2020 de fecha 20 de octubre de 2020, se autoriza la impresión digital del trabajo titulado:

EVALUACIÓN DE DOS HONGOS ANTAGÓNICOS PARA EL CONTROL DE LA PUDRICIÓN BLANCA DE LA CEBOLLA (*Sclerotium cepivorum*) EN CONDICIONES *in vitro*.

Previo a conferírsele el título de INGENIERO AGRÓNOMO en el grado académico de LICENCIADO.

Dado en la ciudad de Guatemala de la Asunción, a los 26 días del mes de octubre del año 2020.



**MGTR. JULIO ROBERTO GARCÍA MORÁN, SECRETARIO
CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
Universidad Rafael Landívar**

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS: Por darme sabiduría como dice Proverbios 1:7
“El principio de la sabiduría es el temor a Jehová”...
- A MIS PADRES: José Luis Castellanos Vásquez (QPD)
Liliana Moreno
- A MI ESPOSA: Luisa María González de Castellanos
Agradecimiento por todo este tiempo de apoyo.
- A MIS HIJOS: José David Castellanos González y Ana Lorraine Castellanos González
Que este triunfo sea un ejemplo para su superación.
- A MIS HERMANOS: Pablo Yousef, Edgar Samuel, José Luis, Brenda Liliana, Gabriel Alexander, Julio
Obed, Josué Emmanuel, Ana Ruth Castellanos Moreno
Con cariño.
- A MIS ABUELOS: Marco Aurelio Castellanos Ruiz (QPD), Angela Vásquez (QPD)
Humberto Alvarado (QPD), Adelina Moreno
Con cariño.
- A MIS SUEGROS: Vitalino González Medrano y Floridalma Quiñónez de González
Agradecimiento por su apoyo y consejos.
- FAMILIA EN GENERAL: Con especial cariño.
- ASESORES: Ing. Roberto Morales
Dr. Fernando Aldana (QPD)
Un profundo agradecimiento por su guía y por haber enriquecido, tanto este trabajo, como mi vida.

ÍNDICE

	Pag.
1 INTRODUCCIÓN	1
2 MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 Generalidades de la cebolla	3
2.1.1 Historia de las Allium.	4
2.1.2 Importancia económica y distribución geográfica.	5
2.1.3. Ciclo vegetativo.....	7
2.1.4. Requerimiento edafo climáticos.....	7
2.1.5. Material vegetal.....	8
2.1.6. Preparación del terreno.....	9
2.1.7. Siembra y transplante.	9
2.1.8. Escardas.....	10
2.1.9. Fertilización.....	10
2.1.10 Riego.	11
2.1.11 Propiedades medicinales.	11
2.1.12 Concepto de enfermedades en las plantas.	11
2.2. Clasificación de las enfermedades de las plantas	12
2.2.1 Descubrimiento de la función que desempeña los hongos.....	13
2.2.2 Enfermedad de la pudrición blanda de la cebolla.....	13
2.2.3 Clasificación taxonómica.....	14
2.2.4 Enfermedades ocasionadas por <i>Sclerotium</i>	14
2.3 <i>Trichoderma</i> spp.....	16
2.3.1 Requerimientos de temperatura de <i>Trichoderma</i>	18
2.3.2 Necesidades nutricionales de <i>Trichoderma</i>	19
2.3.3 Mecanismos de acción.....	19
2.3.4 Enzimas producidas por <i>Trichoderma</i> spp.	19
2.4 <i>Beauveria bassiana</i>	20
2.4.1 Taxonomía de <i>Beauveria bassiana</i>	21
2.5 Utilización en el control biológico de plagas	22

2.6	Alelopatía	22
2.7	Cultivos duales	23
3	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	24
4	OBJETIVOS.....	26
4.1	Objetivo general	26
4.2	Objetivos específicos.....	26
5	HIPÓTESIS	27
5.1	Hipótesis.....	27
6	METODOLOGÍA	28
6.1	Localización del trabajo.....	28
6.2	Material experimental.....	28
6.3	Factores a estudiar	28
6.4	Descripción de los tratamientos.....	28
6.5	Diseño experimental.....	31
6.6	Modelo estadístico.....	31
6.7	Unidad experimental	31
6.8	Croquis	32
6.9	Aislamiento y multiplicación de microorganismos.....	35
6.9.1	Procedimiento.....	35
6.9.2	Preparación de los ensayos de patogenicidad.....	37
6.9.3	Fase de bioensayo.....	38
6.10	Variables de respuesta	41
6.11	Análisis de información.....	41
6.11.1	Análisis estadístico.....	41
7	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
7.1	Evaluación del antagonismo	43
7.2	Evaluación de las dosis para el control de pudrición blanca	49
7.3	Evaluación del bioensayo	51
8	CONCLUSIONES	54
9	RECOMENDACIONES	55
10	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	56
11	ANEXOS.....	60

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la cebolla es la siguiente: (Ayala, 2000).....	4
Tabla 2. Exportaciones e importaciones de cebolla en dólares de los años 2008 a agosto del 2013.	6
Tabla 3. Clasificación taxonómica de la pudrición blanda de la cebolla es la siguiente. (Agrios, 2011).....	14
Tabla 4. Clasificación Taxonómica de Trichoderma sp. Agrios (2011)	20
Tabla 5. La taxonomía de Beauveria bassiana es la siguiente, (Gaxiola, 2012)	21
Tabla 6. Descripción del primer ensayo in vitro para el tratamiento del conteo de esclerocios. En donde Beauveria bassiana 1 es la muestra 06-01 de Cengicaña y Beauveria bassiana 2 es la de código 08-01 y Trichocerma del cepario del ICTA. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010.....	29
Tabla 7. Descripción del segundo ensayo in vitro para los tratamientos en las dosis. Donde se evaluó cuál de los antagonistas Beauveria bassiana y Trichoderma consiguió los mejores resultados de inhibición del micelio. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010.....	30
Tabla 8. Al término de los ensayos in vitro se utilizó la mejor dosis de los factores a estudiar con los dos antagonísticos más prometedores para realizar el Bioensayo. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010	30
Tabla 9. Representa la forma que fue colocado en la incubadora el ensayo con los tres antagonistas con el fitopatógeno. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010.....	32
Tabla 10. Representa como se ubicó dentro de la incubadora el ensayo de las dosis propuesto con sus cuatro repeticiones (R). Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010....	33
Tabla 11. Representación de la ubicación que se utilizó para el bioensayo, se procedió de la siguiente forma: Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010	34
Tabla 12. Cantidad total de las medias del número de esclerocios según el grado de patogenicidad y antagonista. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010	46
Tabla 13. Análisis de varianza, realizado al ensayo de la medición de los grados de patogenicidad para el control en la pudrición de esclerocios en los tratamientos. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010	47
Tabla 14. Prueba de medias de Tukey, sobre el poder de inhibición de los 6 tratamientos aplicados en contra de Sclerotium cepivorum. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010.....	47
Tabla 15. Prueba de las medias para determinar cuál de los 3 antagonistas investigados tuvo dominio en la reducción de la producción de esclerocios. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010.....	48
Tabla 16. Resultados del análisis estadístico (Andeva) sobre el crecimiento del micelio y las cantidades de dosis propuestas: Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010	50

Tabla 17. Prueba de las Medias de las dosis investigadas. Los tratamientos están ordenados en las dosis que obtuvieron una mayor alelopatía y/o micoparasitismo en contra de *Sclerotium cepivorum*. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010.....51

Tabla 18. Prueba de t para comparar a los antagonistas con la Pudrición Blanca in vitro para su control. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,01053

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de distribución de los antagonistas con relación a la Pudrición Blanca en prueba duales de los tratamientos, propuesto por (Hunter, 1982). Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010.....	44
Figura 2. Medidas de las cantidades de esclerocios por tratamiento y el grado de inhibición de esclerocios por los antagonistas. A = Trichoderma, B = Beauveria I y C Beauveria 2. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010	45
Figura 3. Medias de los radios de crecimiento en respuesta a la dosis de esporas inactivadas de los antagonistas. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010.....	49
Figura 4. Número de plantas según la incidencia de infectadas en presencia de los antagonistas en el suelo. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010	52

EVALUACIÓN DE DOS HONGOS ANTAGÓNICOS EN EL CONTROL DE LA PUDRICIÓN BLANCA DE LA CEBOLLA *Sclerotium cepivorum* (Mycelia Sterilia; Sclerotiniaceae) EN LA CEBOLLA *Allium cepa* IN VITRO EN QUETZALTENANGO

Resumen

El presente trabajo de investigación fue ejecutado en las instalaciones del ICTA, municipio de Olintepeque, departamento de Quetzaltenango. El objetivo principal fue determinar el grado de antagonismo de *Trichoderma* y *Beauveria* sp, para el control de *Sclerotium cepivorum*, *in vitro* e *in vivo*. Se utilizaron 3 diseños completamente al azar, en el primer ensayo con 18 unidades experimentales y 3 repeticiones; la unidad experimental lo constituyeron platos de Petri. El segundo ensayo *In vitro* tuvo 12 unidades experimentales y 4 repeticiones en platos Petri y el bioensayo fue realizado en 3 unidades experimentales con 18 repeticiones. Los mejores tratamientos para la inhibición en la formación del esclerocio fueron los antagonistas *Trichoderma* sp, y *Beauveria* 06-01, los conteos inhibieron significativamente, las medias de 21 y 30 respectivamente. En la prueba por plato Petri de dosificación, se comprobó que la solución 10×10^6 conidios por cc por unidad experimental, redujo significativamente el crecimiento del micelio a un radio de 1.11 cm de *Trichoderma*. Se hizo una prueba en macetas para evaluar la eficacia, *Trichoderma* con un 89%, *Beauveria* sp. un 83% y el tratamiento testigo, (inoculado con 5 esclerocios por 25 cc suelo- cajas plásticas) las plantas infectadas alcanzaron 56% incidencia de pudrición blanca, coeficientes significativos en la comparación. Por lo que se recomienda adaptar el uso de *Trichoderma* y *Beauveria* I, en el manejo de la pudrición blanca en campos infectados con esta enfermedad.

1 INTRODUCCIÓN

Guatemala es un país con una amplia diversidad, tanto de climas, como productos agrícolas por su ubicación y cercanía a la línea ecuatorial del planeta. La agricultura se ha desarrollado desde el nivel del mar hasta las partes más altas del país, produciéndose en climas cálidos, templados y fríos.

En el período del 2002 al 2003 el Instituto Nacional de estadística, realizó el IV censo nacional agropecuario, en donde se reportaron 1,335 hectáreas productoras de cebolla, la producción fue de 26,334 toneladas, Quetzaltenango produjo 3,309 toneladas de cebolla; que equivale al 12.5% de la producción nacional de cebolla (INE, 2003).

El cultivo de cebolla es limitado por la presencia de insectos, hongos y bacterias que disminuyen la calidad y el número de bulbos cosechados. Uno de los factores que limitan la producción de cebolla, es inducido por la pudrición blanca de la cebolla, la cual es provocada por el hongo *Sclerotium cepivorum*. Con frecuencia produce elevadas pérdidas en hortalizas y frutos carnosos, los hospedadores más comunes son las leguminosas, crucíferos, cucurbitáceos, tomate, papa, apio y cebolla (Agrios, 2011).

Los esclerocios de *Sclerotium cepivorum* se disemina a través del riego por gravedad, corrientes de agua, el suelo infectado adherido a herramientas, semillas y calzado. El control ha dependido de la aplicación de calcio y de algunos fungicidas como pentacloronitrobenzeno (PCNB), el cual está prohibido su uso, captafol y dicloran antes de realizar la siembra o bien en los surcos durante la plantación, pero su uso no es económicamente aceptable (Agrios, 2011). De ahí la importancia de tener acceso tecnológico, a métodos de manejo de esta enfermedad. Uno de los métodos prometedores es la utilización de hongos antagonistas como lo es *Trichoderma* sp, sin embargo, en algunos lugares aún está en etapa de experimentación (Agrios, 2011).

El daño que *Sclerotium cepivorum* causa en la cebolla es tal, que si no se identifican métodos rentables de manejo de la enfermedad o realizan estudios de investigación o experimentación puede provocar una disminución significativa en la producción local y nacional, lo cual sería muy perjudicial para la economía, tomando en cuenta la recesión mundial que se agudiza cada día. Según Agrios (2011), menciona que, de acuerdo a estudios in vitro bajo ambientes controlados, existe la posibilidad de utilizar cepas de *Trichoderma* sp, que ocurren

naturalmente, para el combate *Sclerotium cepivorum* y que estas cepas pueden ser usadas en tratamientos integrados con otros métodos de control.

Por lo que en este informe se presentan los resultados de los ensayos del laboratorio. En donde lo principal es que se pudo constatar, tanto para el conteo de esclerocios como en el crecimiento micelial una disminución significativa de *Sclerotium cepivorum* a causa del efecto que provocó *Trichoderma* sp, en comparación con las dos cepas de *Beauveria bassiana*, y del resultado del bioensayo, confirmando los datos que se observaron en el laboratorio. Los antagonistas *Trichoderma* sp y *Beauveria bassiana* 06-01 en el control de esclerocios obtuvieron una media de 21 y 36 proporcionalmente en comparación a los 5,236 del testigo.

En la prueba de la dosis, *Trichoderma* sp. con la solución de 10×10^6 conidias por centímetro cuadrado por unidad; obtuvo el mejor desempeño reduciendo significativamente el crecimiento del micelio en 1.1 cm en comparación del testigo que obtuvo 2.20 cm.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Generalidades de la cebolla

La cebolla es una hortaliza que desde tiempos inmemorables se produce y que tiene su origen primario localizado en Asia central, y como centro secundario el Mediterráneo, pues se trata de una de las hortalizas de consumo más antigua. Las primeras referencias se remontan hacia 3200 A.C. Fue muy cultivada por los egipcios, griegos y romanos. Durante la Edad Media se cultivó y desarrolló en los países mediterráneos, donde se seleccionaron las variedades de bulbo grande, que dieron origen a las variedades modernas (Montenegro & Cardenas, 2014).

La cebolla (*Allium cepa*), es una planta herbácea, bienal de las familias de las Alliaceae (tabla 1). En el primer año de cultivo tiene lugar la formación del bulbo, mientras que el segundo año se produce la emisión del “escapo floral” o fase reproductiva (Urrutia, 2006).

En cuanto a la morfología, de la cebolla presenta un sistema radicular formado por numerosas raicillas fasciculadas de color blanquecino, poco profundas, que salen a partir de un tallo a modo de disco, o “disco caulinar”. Este disco caulinar presenta numerosos nudos y entrenudos (muy cortos), y a partir de éste salen las hojas. Las hojas tienen dos partes claramente diferenciadas: una basal, formada por las “vainas foliares” engrosadas como consecuencia de la acumulación de sustancias de reserva; y otra terminal, formada por el “filodio”, que es la parte verde y fotosintéticamente activa de la planta. Las vainas foliares engrosadas forman las “túnicas” del bulbo, siendo las más exteriores de naturaleza apergamizada y con una función protectora, dando al bulbo el color característico de la variedad. Los filodios presentan los márgenes foliares soldados, con una apariencia de hoja hueca. Las hojas se disponen de manera alterna. (Gudiel R. , 2010)

El desarrollo de los bulbos tiene lugar como consecuencia de un aumento del fotoperíodo (período de iluminación diurna) acompañado de un ascenso de las temperaturas, ya que la cebolla es una planta de día largo (Urrutia, 2006).

En Guatemala se siembran distintas variedades de cebolla, las cuales se agrupan por su forma, color, sabor y fotoperíodo. Según su forma tenemos: achatadas, redondas y ovaladas. De acuerdo con su sabor algunos son picantes y dulces. Por su color, rojas, amarillas y blancas. Propagación asexual o bulbos y sexual por semilla botánica, contamos con variedades de días

cortos, intermedios y largos; el cultivo de la cebolla se puede realizar en cualquier tipo de terreno, aunque el cultivo demanda suelos con un buen contenido de materia orgánica. Las temperaturas altas aceleran el proceso de formación de los bulbos, mientras las bajas lo retrasan. La variación de luz observada en Guatemala es de 10 a 12 horas aproximadamente, dependiendo de los meses del año cuando se realiza la siembra (Ayala, 2000).

Tabla 1.

Clasificación taxonómica de la cebolla es la siguiente:

Reino	Plantae
Sub reino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Asparagales
Familia	Alliaceae
Subfamilia	Alliodeae
Genero	<i>Allium</i>

(Ayala, 2000)

2.1.1 Historia de las *Allium*. Es el género de las cebollas, ajos, puerros y cebolletas. El aroma es característico de todo el género, pero no todos los miembros poseen ese sabor fuerte. Existen alrededor de 1,250 especies en este género, la mayoría clasificadas en la familia Alliaceae, aunque algunos botánicos las colocan en la familia Liliaceae. Son plantas bulbosas anuales o bianuales que crecen en climas templados del hemisferio norte, excepto unas cuantas especies que crecen en Chile, como *Allium juncifolium*; en Brasil *Allium sellovianum* o en África tropical *Allium spathaceum*. Su altura puede variar entre 10 cm y 1,5 m y las flores forman una umbela al final de un tallo carente de hojas. El tamaño de los bulbos varía considerablemente y forman bulbillos alrededor del principal (APG II, 2003).

a. Clasificación histórica de las Liliaceae. La familia Liliaceae fue concebida por Antoine Laurent de Jussieu en 1789 y su definición era muy amplia y artificial: todas las especies de plantas con 6 pétalos y gineceo de ovario súpero eran incluidas en esta familia. En un momento llegó a abarcar cerca de 300 géneros y 4500 especies y se incluían dentro del gran orden Liliales. (Cronquist, 1981; Thorne, 1992) citado por APG II como las monocotiledóneas petaloideas, un “grupo” caracterizado por flores con pétalos vistosos y sin almidón en el endosperma. Cronquist (1981), ubicó a la mayoría de las monocotiledóneas petaloideas con flores de 6 estambres en una muy amplia (sabemos que ampliamente polifilético) Liliaceae. Mientras que otros la han dividido, las monocotiledóneas petaloideas con 6 estambres en Liliaceae, incluyendo especies con un ovario súpero, y Amaryllidaceae, que incluye a las especies con ovario ínfero (Lawrence 1951). No obstante, con el tiempo se llegó a reconocer que la familia Liliaceae incluía un vasto y heterogéneo repertorio de géneros que no estaban relacionados filogenéticamente. Existieron varias propuestas para separar en grupos pequeños de géneros, en familias más homogéneas, pero ninguna de ellas fue ampliamente aceptada. En la década de 1980, en el contexto de una revisión general de la clasificación de las angiospermas, las liliáceas fueron sometidas a un escrutinio más intenso. Hacia fines de esa década, los Jardines Botánicos de Kew, el Museo Británico de Ciencias Naturales y los Jardines Botánicos de Edimburgo formaron un comité para examinar la posibilidad de separar a las liliáceas en subgrupos más homogéneos, para la organización de sus herbarios. El comité recomendó que se utilicen 24 nuevas familias en lugar de la vieja y ampliamente definida Liliaceae. En las últimas dos décadas los estudios de ADN y los datos morfológicos (particularmente aquellos relacionados con la morfología reproductiva) sumados a los análisis cladísticos, han permitido concluir que las “monocotiledóneas petaloideas” en realidad no pertenecen a una misma familia botánica, sino que se distribuyen en dos órdenes diferentes: Asparagales y Liliales. La monofilia de estos órdenes está sustentada por análisis cladísticos basados en morfología, ADNr y muchas otras secuencias de ADN (APG II, 2003).

2.1.2 Importancia económica y distribución geográfica. Se trata de un cultivo muy extendido por todo el mundo, pues hay gran número de variedades con distinta adaptación a las diferencias de climatología que influyen en su vegetación. A pesar de ello no todos los países cubren sus necesidades, y han de importar una parte de su consumo (Monterroza, 2011).

La superficie total plantada de cebolla en el mundo asciende a más de 2 millones de hectáreas, produciéndose 32.5 millones de toneladas. En la Unión Europea se producen anualmente unos 3 millones de toneladas de esta hortaliza, en 95.000 ha de superficie. Europa es el único continente productor que importa (1.600.000 t) bastante más de lo que exporta (1.100.000). Los grandes importadores de cebolla europeos (Francia y Alemania) están incrementando rápidamente su producción. En Alemania la producción de cebolla aumenta a un ritmo del 5%.

Fuera de Europa, países como China están incrementando la producción. En los últimos cinco años, Nueva Zelanda ha triplicado su producción. En América, los principales países productores son: México, Ecuador, Jamaica y Paraguay.

El banco de Guatemala expuso los resultados de las exportaciones de cebolla desde el año 2008 hasta el actual (Tabla 2) (Banco de Guatemala, 2013).

Tabla 2.

Exportaciones e importaciones de cebolla en dólares de los años 2008 a agosto del 2013.

Exportaciones (FOB)					
Año 2008	Año 2009	Año 2010	Año 2011	Año 2012	Año 2013
3,885,866	5,968,233	4,673,040	4,943,438	4,184,765	3,158,233
Importaciones (CIF)					
1,852,388	1,952,109	3,347,134	2,949,007	3,683,197	1,691,344

(Banco de Guatemala, 2013).

En la tabla 2 se establece que el mercado no está saturado y que es mayor la demanda que la oferta, de ahí la importancia; porque es generador de empleo al mediano y pequeño agricultor.

Las exportaciones en dólares de cebolla blanca que Guatemala realizó, durante los años 1997 con \$.1,145,505, en 1998 un total de \$.1,715,578 y 1999 de \$.5,125,802 las exportaciones tuvieron un aumento considerable, tanto para el mercado Centroamericano como con México y Estados Unidos, en donde se observa que en el año 1999 fue el Salvador el país con mayor demanda con \$.3,800,693. Guatemala exportó en los años ya mencionados al país de Nicaragua cebolla amarilla, siendo éste el de mayor consumo de esta variedad en los años 1997 y 1998 con \$.2,600 y \$.74,800 (Ayala, 2000).

La inversión que realizó Guatemala en importar cebolla blanca y amarilla de 1997 fue \$.5,183 para 1998 de \$.383,702 y por último el año de 1999 con \$.422,726, siendo México el mayor proveedor de cebolla blanca y Estados Unidos de cebolla amarilla.

2.1.3. Ciclo vegetativo. En el ciclo vegetativo de la cebolla se distingue cuatro fases (Urrutia, 2006).

a. El crecimiento herbáceo. Comienza con la germinación, formándose un tallo muy corto, donde se insertan las raíces y en el que se localiza un meristemo que da lugar a las hojas. Durante esta fase tiene lugar el desarrollo radicular y foliar.

b. La formación de bulbos. Se inicia con la paralización del sistema vegetativo aéreo y la movilización y acumulación de las sustancias de reserva en la base de las hojas interiores, que a su vez se engrosan y dan lugar al bulbo. Durante este período tiene lugar la hidrólisis, así como la síntesis de glucosa y fructosa que se acumulan en el bulbo. Se requiere fotoperíodos largos, y si la temperatura durante este proceso se eleva, esta fase se acorta.

c. El reposo vegetativo. La planta detiene su desarrollo y el bulbo maduro se encuentra en latencia.

d. La reproducción sexual. Se suele producir en el segundo año del cultivo. El meristemo apical del disco desarrolla, gracias a las sustancias de reserva acumuladas un tallo floral, localizándose en su parte terminal una inflorescencia en umbela (Barahona, 2015)

2.1.4. Requerimiento edafo-climáticos. Es una planta de climas templados, en las primeras fases del cultivo tolera temperaturas bajo cero para la formación y maduración del bulbo, sin embargo, requiere temperaturas más altas y días largos, para las variedades precoces o de día corto. Prefiere suelos sueltos, sanos, profundos, ricos en materia orgánica, de consistencia media y no calcárea. Los aluviones de los valles y los suelos de transporte en las dunas próximas al mar le van muy bien. En terrenos pedregosos, poco profundos, mal labrados y en los arenosos pobres, los bulbos no se desarrollan bien y adquieren un sabor fuerte. El intervalo para repetir este cultivo en

un mismo suelo no debe ser inferior a tres años, y los mejores resultados se obtienen cuando se establece en terrenos no utilizados anteriormente para cebolla.

Es muy sensible al exceso de humedad, pues los cambios bruscos pueden ocasionar el agrietamiento de los bulbos. Una vez que las plantas han iniciado el crecimiento, la humedad del suelo debe mantenerse por encima del 60% del agua disponible en los primeros 40 cm del suelo. El exceso de humedad al final del cultivo repercute negativamente en su conservación. Se recomienda que el suelo tenga una buena retención de humedad en los 15-25 cm superiores del suelo. La cebolla es medianamente sensible a la acidez, oscilando el pH óptimo entre 6-6.5. (Vargas, 2014)

2.1.5. Material vegetal. Las variedades de cebolla son numerosas y presentan bulbos de diversas formas y colores. Pueden ser clasificadas desde diferentes puntos de vista: criterio fitogeográfico y ecológico, forma y color del bulbo, modo de multiplicación, criterio comercial. El primer criterio es el único que puede considerarse científico y al mismo tiempo práctico, ya que implica el estudio del óptimo climático y el óptimo ecológico de las distintas variedades y es de gran importancia en la aclimatación de las mejores variedades y en la creación de otras nuevas mediante cruzamiento. Bajo el criterio comercial se pueden distinguir tres grandes grupos de variedades: cebollas gigantes, cebollas corrientes y cebolletas. Las primeras presentan un diámetro de bulbo superior a 10-11 cm y las últimas son las cebollas pequeñas que se destinan a la preparación de encurtidos. Las variedades e híbridos más importantes en Guatemala son: Excel bermuda 230-01, variedad de color amarillo adaptada para regiones con días cortos de 8 a 12 horas luz diarias. Produce cebollas de cabeza media de forma redonda, achatada y pulpa suave. Resistente a enfermedades y se puede cosechar a los 150 días después de trasplante.

Yellow granex 230-02, cebolla híbrida de color amarillo adaptada para regiones de días cortos, produce cabezas grandes de forma redonda aglobada. Se cosecha a los 150 días después del trasplante. (Gudiel, 1987).

Texas early 230-03, variedad de color amarillo, adaptada para días cortos y produce cabezas grandes en forma de trompos, se puede cosechar a los 150 días.

Chata mexicana 240-01, cebolla de días cortos, variedad más cultivada en Guatemala para la producción de cebolla con tallo. La forma es redonda achatada de color blanco y sabor agradable. Se cosecha a los 100 días después del trasplante.

Cristal White Wax 240-02, variedad de cebolla de color blanco con adaptación similar a la chata mexicana. Se cultiva para la producción de cebolla con tallo. La forma de la cabeza es de tamaño medio, de forma redonda achatada. Si se cultiva con distancias mínimas entre plantas y se le da menos tiempo para la cosecha, se puede utilizar como cebollas para encurtir. Se cosecha a los 150 días después del trasplante.

White Portugal 240-04 y evergreen buching 240-05, estas dos variedades son especiales para la producción de cebollines para encurtir. Las cabezas son pequeñas y de forma redonda alargada de color blanco; buena adaptación para regiones de días cortos.

Red creole 250-01, variedad de cebolla de bulbo rojo; adaptada para regiones de días cortos. Produce cabezas de tamaño medio de forma redonda achatada. Se cosecha a los 150 días después del trasplante (Gudiel, 1987).

2.1.6. Preparación del terreno. La profundidad de la labor preparatoria varía según la naturaleza del terreno. En suelos compactos la profundidad es mayor que en los suelos en los que se realizan una labor de vertedera, sin ser demasiado profunda (30-35 cm) por la corta longitud de las raíces. Hasta la siembra o plantación se completa con los pases de grada de discos necesarios, normalmente con 1-2, seguido de un pase de rulo o tabla, para conseguir finalmente un suelo de estructura fina y firme. Si el cultivo se realiza sobre camellones éstos se disponen a una distancia de 40 cm., siendo este sistema poco utilizado actualmente (Monterroza, 2011).

Se establece que para nuestro medio lo recomendado para la siembra es en semillero y trasplante o siembra directa. Habiendo realizado todas las actividades culturales para la preparación del terreno (barbecho, desinfección del suelo etc.).

2.1.7. Siembra y trasplante. La siembra de la cebolla puede hacerse de forma directa o en semillero para posterior trasplante, siendo esta última la más empleada. La cantidad de semilla necesaria es muy variable (4 g/m²), normalmente se realiza a voleo y excepcionalmente a chorrillo, recubriendo la semilla con una capa de mantillo de 3-4 cm. De espesor. La época de siembra varía según la variedad y el ciclo del cultivo.

Al mes se realiza el trasplante; obteniéndose aproximadamente 1.000 plantas/metro cuadrado de semillero, es importante que el semillero esté limpio de malas hierbas, debido al

crecimiento lento de las plantas de cebolla y su escaso grosor. La plantación se puede realizar a mano o con trasplantadora; en el primer caso se utiliza una azadilla, colocando una planta por golpe. Se dejará 10-12 cm. Entre líneas y 10-12 cm entre plantas dentro de la misma línea, distanciados entre sí 50-60 cm., sobre los que se disponen dos líneas de plantas distanciadas a 30-35 cm y 10-15 cm entre plantas. También se realiza la plantación en camellones y apretando la tierra para favorecer el arraigo. Seguidamente se dará un riego, repitiéndolo a los 8-10 días (Monterroza, 2011).

2.1.8. Escardas. La limpieza de las malas hierbas es imprescindible para obtener una buena cosecha, pues se establece una fuerte competencia con el cultivo debido principalmente al corto sistema radicular de la cebolla. Se realizarán repetidas escardas con el objeto de airear el terreno, interrumpir la capilaridad y eliminar malas hierbas. La primera se realiza apenas las plantitas han alcanzado los 10 cm. De altura y el resto, cuando sea necesario y siempre antes de que las malas hierbas invadan el terreno.

Las materias activas de los herbicidas más utilizados en el cultivo de la cebolla son: Linuron 50%, Cloroxuron 50%, methabenzthiazuron 70% (Ayala, 2000).

2.1.9 Fertilización. Para obtener bulbos grandes se necesitan tierras bien fertilizadas. No deben cultivarse las cebollas en tierras recién estiercoladas, debiendo utilizarse las que se estercolean el año anterior.

Cada 1,000 kg de cebolla (sobre materia seca) contienen 1,70 kg de fósforo, 1,56 kg de potasio y 3,36 kg de calcio, lo cual indica que es una planta con elevadas necesidades nutricionales. La incorporación de abonado mineral se realiza con la última labor preparatoria próxima a la siembra o a la plantación, envolviéndolo con una capa de tierra de unos 20 cm.

El abonado en cobertor se emplea únicamente en cultivos con un desarrollo vegetativo anormal, hasta una dosis máxima de 400 kg/ha de nitrosulfato amónico del 26% N, incorporándolo antes de la formación del bulbo.

Nitrógeno. La absorción de nitrógeno es muy elevada, aunque no deben sobrepasarse los 25 kg por hectárea, e influye sobre el tamaño del bulbo. Por regla general, basta con un suministro días antes del engrosamiento del bulbo y después del trasplante, si fuese necesario. El abono

nitrogenado mineral favorece la conservación, ocurriendo lo contrario con el nitrógeno orgánico. El exceso de nitrógeno da lugar a bulbos más acuosos y con mala conservación.

Fósforo. La necesidad en fósforo es relativamente limitada y se considera suficiente la aplicación en el abono de fondo. Se deberá tener en cuenta que el fósforo está relacionado con la calidad de los bulbos, resistencia al transporte y mejor conservación.

Potasio. Las cebollas necesitan bastante potasio, ya que favorece el desarrollo y la riqueza en azúcar del bulbo, afectando también a la conservación.

Calcio. El suministro de calcio no es por norma necesario si el terreno responde a las exigencias naturales de la planta. (Ayala, 2000)

2.1.10. Riego. El primer riego se debe realizar inmediatamente después de la plantación. Posteriormente los riegos serán indispensables a intervalos de 15-20 días. El número de riegos es mayor para las segundas siembras puesto que su vegetación tiene lugar en verano, mientras que las siembras de finales se desarrollan durante el invierno. El déficit hídrico en el último período de la vegetación favorece la conservación del bulbo, pero confiere un sabor más acre. Se interrumpirán los riegos de 15 a 30 días antes de la recolección. (Pantaleon, 2008)

2.1.11. Propiedades medicinales. La cebolla es rica en propiedades que hacen de ella un tónico general y un estimulante. Debido a su contenido en vitaminas A y C puede tratar todo tipo de enfermedades respiratorias, también gracias a su contenido en vitamina B puede tratar enfermedades nerviosas. Tiene ciertas propiedades anti anémicas, y gracias a su contenido en hierro, fósforo y mineral repone la pérdida de sangre y glóbulos rojos. La cebolla protege contra infecciones y, sobre todo, regula el sistema digestivo, manteniendo el balance de los fermentos digestivos y previniendo los parásitos intestinales. (Vasquez, 2006)

2.1.12. Concepto de enfermedades en las plantas. Se establece que las plantas se mantienen sanas o normales cuando llevan a cabo sus funciones fisiológicas hasta donde les permita su potencial genético. Estas funciones comprenden su división celular normal, su

diferenciación y desarrollo, absorción del agua y los minerales del suelo y su traslado por toda la planta, la fotosíntesis y los derivados de este al resto de la planta para su utilización o almacenaje.

Las plantas presentan enfermedades cuando una o varias de sus funciones sean alteradas por los organismos patógenos o por determinadas condiciones del medio. Las causas principales de enfermedades en las plantas son los organismos patógenos y los factores del medio ambiente. La reacción de la planta ante el agente que ocasiona su enfermedad varía considerablemente según el agente causal y a veces según la planta misma y se concentra en la zona enferma y es de naturaleza química invisible. Sin embargo, poco tiempo después la reacción se difunde y se producen cambios histológicos que se hacen notables y constituyen los síntomas de la enfermedad. Las células y los tejidos afectados de las plantas enfermas comúnmente se debilitan o destruyen a causa de los agentes que ocasionan la enfermedad. La capacidad que tienen esas células y tejidos para llevar a cabo sus funciones normales disminuye o se anula por completo; como resultado, la planta muere o merma su crecimiento. Los tipos de células o tejidos que son infectados determinan el tipo de función fisiológica de la planta que será afectada. Así la infección de raíz (por ejemplo, la pudrición) dificulta la absorción del agua y de los nutrientes del suelo, la infección de los vasos xilemáticos (marchitamiento vascular y ciertos canchros) interfieren con la absorción del agua y los minerales hasta la parte superior de la planta. (Agrios, 2011).

2.2 Clasificación de las enfermedades de las plantas

Hay decenas de miles de enfermedades que afectan las plantas cultivadas. En promedio cada tipo de cultivo puede ser afectado por un centenar o más de enfermedades. Cada grupo patógeno puede atacar desde una hasta varias docenas de variedades o incluso cientos de especies vegetales. Para facilitar el estudio de las enfermedades de las plantas es necesario agruparlas en forma ordenada. En ocasiones las enfermedades de las plantas se clasifican según los síntomas que ocasionan (pudrición de la raíz, canchros, marchitamientos, manchas foliares, sarnas, tizones, antracnosis, royas, carbonos, mosaicos, amarillamientos, manchas anulares) de acuerdo al órgano de la planta que afectan (enfermedades de la raíz, tallo, hojas o frutos). Sin embargo, el criterio más útil en la clasificación de una enfermedad es el tipo de agente patógeno que la ocasiona

Esta clasificación tiene la ventaja de que indica la causa de la enfermedad, lo cual permite prever su probable desarrollo y diseminación, así como las posibles medidas de control. De acuerdo con lo mencionado, las enfermedades de las plantas se clasifican de la manera siguiente:

Enfermedades infecciosas o bióticas de las plantas. Enfermedades ocasionadas por hongos. Enfermedades ocasionadas por procariontes (bacterias y microplasmias). Enfermedades ocasionadas por plantas superiores parásitas. Enfermedades ocasionadas por virus y viroides. Enfermedades ocasionadas por nematodos. Enfermedades ocasionadas por protozoarios. Enfermedades no infecciosas o abióticas de las plantas debidas a. Temperaturas muy altas o bajas. Falta o exceso de humedad en el suelo. Falta o exceso de luz. Falta de oxígeno. Contaminación atmosférica. Deficiencia de nutrientes. Toxicidad mineral. Acidez o alcalinidad del suelo pH. Toxicidad de los plaguicidas y Prácticas agrícolas inadecuadas (Islas, 1994).

2.2.1 Descubrimiento de la función que desempeña los hongos. Prevost en 1807 demostró de manera determinante que lo que dañaba al trigo era el carbón cubierto y lo ocasionaba un hongo, estudió las esporas del hongo, su producción y germinación. Pudo controlar la enfermedad al sumergir las semillas en una solución de sulfato de cobre y señaló la importancia del medio ambiente en la inducción y desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, los descubrimientos de Prevost se adelantaron a su época y fueron rechazados por casi todos sus contemporáneos, quienes creían en la generación espontánea (Agrios, 2011).

La epifita devastadora ocasionada por el tizón tardío de la papa en el norte de Europa, particularmente en Irlanda, en la década de 1840 reafirmó de manera trágica la importancia de las enfermedades de las plantas y estimuló de manera notable la investigación de sus causas. La destrucción de los cultivos de la papa en 1845 y 1846 dio como resultado hambre y la muerte de cientos de miles de personas y la emigración de más de un millón y medio de irlandeses a los Estados Unidos. Algunos investigadores describieron varios aspectos de la enfermedad y del agente patógeno, pero fue Debarry en 1861 quien finalmente demostró mediante experimentos que el hongo *Phytophthora infestans* era el causante de la enfermedad (Islas, 1994)

2.2.2 Enfermedad de la pudrición blanda de la cebolla. La pudrición blanca causada por el hongo *Sclerotium cepivorum* es una de las enfermedades más limitantes del cultivo de la cebolla (*Allium cepa*). El hongo ataca los bulbos, las raíces y el follaje de plantas adultas, aunque puede afectar desde el estado de plántula. El problema se presenta principalmente en el campo; sin

embargo, en caso de que los bulbos sean infectados en las últimas etapas de su desarrollo se produce una pudrición suave durante el almacenamiento (Agrios, 2011).

El combate de esta enfermedad es difícil y las estrategias utilizadas actualmente son poco efectivas. La rotación de cultivos no es eficaz, no se cuenta con variedades resistentes y el combate químico utilizado por la totalidad de los productores no funciona, ya que no es posible una adecuada cobertura de los sitios de infección (base del bulbo) y ninguno de los fungicidas aplicados hasta el momento es eficaz en disminuir la densidad del inóculo; además, este tipo de manejo provoca la presencia de residuos sobre las partes comestibles y contaminación ambiental debido a las altas dosis utilizadas.

2.2.3 Clasificación taxonómica.

El agente causal de *Sclerotium Cepivorum* un hongo imperfecto perteneciente a la familia Mycelia Sterilia, se reproduce a través de la producción de gran cantidad de pequeños esclerocios que funcionan como propágulos del inóculo. En ocasiones también produce conidios en los que aparentemente son estériles. Los esclerocios son masas compactas de hifas que pueden o no contener tejido del hospedante por lo común con una cubierta oscura y capaz de sobrevivir bajo condiciones desfavorables (tabla 3) (Granados & Wang, 2005)

Tabla 3.

Clasificación taxonómica de la pudrición blanda de la cebolla es la siguiente.

Clase	Agonomycetes
Orden	Mycelia Sterilia
Familia	Sclerotiniaceae
Genero	<i>Sclerotium</i>
Especie	<i>cepivorum</i>

(Granados & Wang, 2005)

2.2.4 Enfermedades ocasionadas por *Sclerotium*. Son ejemplo de este grupo de enfermedades el ahogamiento de las plántulas, la cancrrosis de tallo, tizón de la corona y las pudriciones de la raíz, corona, bulbos, tubérculos y frutos. Con frecuencia, *Sclerotium* produce

pérdidas considerables en hortalizas y frutos carnosos durante su embarque y almacenamiento. Las enfermedades por *Sclerotium* son principalmente enfermedades de climas cálidos y que afectan a las plantas de países que se localizan en la latitud de 38 grados a cualquier lado del Ecuador. Dado que en los Estados Unidos ocurren con frecuencia y son muy severas en los estados unidos del sur, a dichas enfermedades con frecuencia se les ha denominado mancamientos o tizones sureños. Estas enfermedades afectan a una amplia variedad de plantas, incluyendo hortalizas, flores, cereales, plantas de forraje y malezas. Algunos de los hospedantes más comunes de *Sclerotium* son leguminosas, coníferas, cucurbitáceas, zanahoria, apio, maíz dulce, berenjena, lechuga, quimbombon, cebolla, ajo, pimienta, papa, camote, tomate, amarilis, crisantemo, delfinio, iris, narciso, tulipán, alfalfa, cereales, algodón, cacahuete y tabaco (Agrios, 2011).

Cuando ataca a las plántulas, el hongo invade todas sus partes hasta que ocasiona su muerte, la cual ocurre con gran rapidez. Cuando ataca a las plántulas que ya han formado algún tejido leñoso, el hongo no las invade totalmente, pero se desarrolla en la corteza y rápida o lentamente cubre a las plantas, las cuales finalmente mueren. Por lo general, la infección empieza como una lesión café oscura que aparece sobre el tallo suculento y justo por debajo de la superficie del suelo.

Los primeros síntomas observables se manifiestan en un amarillamiento o marchitez de las hojas inferiores o bien en muerte descendente de las hojas desde su punto hasta el peciolo. Dichos síntomas avanzan posteriormente hasta las hojas de la parte superior de la planta. En plantas con tallos muy suculentos, como en el caso del apio, el tallo puede desplomarse, mientras que, en plantas con tallos más duros, como es el caso de la alfalfa, el frijol, el tomate y el tabaco, el tallo que ha sido invadido mantiene su verticalidad y comienza a perder sus hojas o a marchitarse. Al mismo tiempo, el hongo avanza hacia la parte superior de la planta y cubre la lesión del tallo con una masa blanca y algodonosa de micelio; dicho avance depende el nivel de humedad presente. El hongo se propaga con mayor rapidez hacia las raíces de la planta y finalmente destruye el sistema radical. Su micelio blanco aparece siempre en los tejidos que ha infectado y desde ahí crece desde el suelo hasta las plantas vecinas, produciendo nuevas infecciones. Los tejidos del tallo, tubérculo o frutos que han sido invadidos a menudo son de color café pálido y son blancos, pero no aguanosos. El límite comprendido entre los tejidos sanos y los enfermos, con frecuencia es más oscuro que los demás tejidos cuando los bulbos o raíces carnosas son infectadas, es frecuente que se desarrolle una pudrición aguanosa de las escamas externas o los tejidos de la raíz o todo el bulbo o la raíz puede pudrirse, desintegrarse y ser sustituido por los restos de la planta entretejidos con el

micelio del hongo. En caso de que los bulbos, raíces, frutos, etc. Sean infectados en las últimas etapas de su desarrollo, los síntomas pueden pasar inadvertidos durante la cosecha, pero la enfermedad prosigue en forma de una pudrición durante el almacenamiento.

Sobre los tejidos infectados e incluso sobre el suelo, el hongo produce numerosos esclerocios pequeños de tamaño uniforme que son redondos o irregulares y blancos cuando inmaduros, pero de color café oscuro o negro cuando llegan a su madurez. Los esclerocios maduros no se encuentran unidos a los filamentos miceliales y tiene la forma, el tamaño y el color de una semilla de mostaza.

El hongo *Esclerotium* spp., produce un micelio abundante de color blanco, veloso y ramificado que forma numerosos esclerocios, pero comúnmente es estéril, es decir, no produce esporas. *Esclerotium cepivorum*, produce la pudrición blanca de la cebolla y del ajo, además de esclerocios en ocasiones produce también conidios en esporodocios; sin embargo, todo parece indicar que esos conidios son estériles.

Al parecer, el hongo inverna principalmente en forma de esclerocios, pero también en forma de micelio en los tejidos infectados o en los restos de las plantas. Se disemina a través del agua corriente, el suelo infestado.

El hongo ataca directamente a los tejidos, sin embargo, produce una masa abundante de micelio y mata y desintegra a dichos tejidos al secretar ácido oxálico, así como también enzimas pectinolíticas, celulolíticas y otras enzimas antes de que penetre en el hospedante. Una vez que se ha establecido en las plantas, el hongo avanza y forma micelio y esclerocios con gran rapidez, especialmente cuando hay suficiente humedad y la temperatura es alta, entre 30 y 35 grados centígrados, al parecer, el patógeno crece y sobrevive y ataca a las plantas con mayor frecuencia cerca de la superficie del suelo, quizás debido a que a ese nivel las temperaturas son más favorables, a que haya mayor abastecimiento de sustancias orgánicas que el hongo utiliza para alimentarse y quizás a que haya una menor competencia o antagonismo con otros organismos del suelo (Agrios, 2011).

2.3 *Trichoderma* spp.

El control biológico es la reducción de la densidad del inóculo o de las actividades de un patógeno que produce una enfermedad, por uno o más organismos, en forma natural o a través de la manipulación del medio ambiente, hospedero o antagonista, o por la introducción de una

población de uno o más antagonistas. Esta definición refleja que el Manejo Integral de Poblaciones, es más que una acción específica dirigida a un solo patógeno, como podría ser en el uso de productos químicos.

Aunque se conocen las interrelaciones de organismos biocontroladores con diferentes hospedantes y patógenos, su aplicación como biofungicidas es reciente y aún no completamente implementada debido en parte a que se requiere la selección de un aislamiento “intrínsecamente antagónico”; así como de su producción y formulación en grandes cantidades y a bajo costo que garantice su supervivencia en el suelo o en la semilla (Facultad de Agronomía de Venezuela, 2000).

El control biológico de patógenos del suelo, a través de la adición de microorganismos antagonistas, es un medio no químico (no contaminante) potencial para el control de enfermedades de plantas. Sin embargo, debido a varios factores ambientales, la mayoría de los hongos antagonistas no muestran efectos consistentes de biocontrol, por lo tanto, es necesario reducir la variabilidad y garantizar su persistencia en el campo para convertir a los hongos biocontroladores en una alternativa atractiva al uso de pesticidas químicos.

En resumen, para introducir antagonistas al medio, las consideraciones de importancia a tomar en cuenta son: (a) La viabilidad, formulación y concentración del antagonista; (b) Las clases de coadyuvantes usados; (c) La eficacia y el tiempo de aplicación; (d) Condiciones de microclima durante y después de la aplicación.

El elevado interés científico en el control biológico de patógenos de plantas en respuesta, en parte, al crecimiento de la preocupación pública sobre los pesticidas químicos. Sin embargo, hay igualmente una gran necesidad por el control biológico para patógenos que actualmente no se han controlado o sólo se ha hecho parcialmente.

El género *Trichoderma* comprende especies saprófitas habitantes del suelo, varias de las cuales se citan entre los antagonistas más prometedores e investigados, principalmente para el control biológico de fitopatógenos del suelo, entre éstos, de *Sclerotium cepivorum*. (Catedra de Fitopatología, 2001).

Trichoderma sp., es un agente de control biológico, fue evaluado en pruebas *in vitro*, macetas y campo, determinándose que el aislamiento de *Trichoderma* sp. proveniente de El Cobre, estado Táchira, presentó características de antagonista al competir y parasitar micelio y esclerocios de *Sclerotium cepivorum in vitro*. Se redujo el porcentaje de infección de la enfermedad en macetas cuando se aplicó incorporado a la semilla al momento de la siembra, y en el campo logró el menor

porcentaje de incidencia de la enfermedad y el mayor rendimiento en la cosecha, en comparación a diferentes productos químicos y al testigo (Acevedo R, 2002)

La actividad antagónica de efectos *Coniothyrium minitans* Campbell en esclerocios de *Sclerotium cepivorum* pudiendo constatar la destrucción de los esclerocios mismos (Fitopatología, 2004).

En 2003, la Revista de protección vegetal, hace referencia del Tizón de la Vaina, causado por el hongo *Rhizoctonia solani* Kühn, es considerada la segunda enfermedad de importancia en el cultivo del arroz, en Cuba y el mundo (Censa, 2004).

La potencialidad de aislados del género *Trichoderma* como antagonista de patógenos del suelo es reconocida y muestra resultados positivos sobre *Rhizoctonia solani*. El presente trabajo tiene como objetivo seleccionar los aislamientos de *Trichoderma* spp. Más promisorios en dependencia de su antagonismo *in vitro* y su eficacia en condiciones semi controlada para el biocontrol de *Rhizoctonia* sp. El antagonismo se evaluó por el método del cultivo dual, donde se observó la competencia por el sustrato, micoparasitismo y la antibiosis. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) a las 72 horas y los aislados que presentaron más de un 60 PICR y al menos dos tipos de interacción hifal, se seleccionaron para evaluar su eficacia técnica (ET) sobre el patógeno en condiciones semi controladas (tabla 4).

2.3.1 Requerimientos de temperatura de *Trichoderma*. Es un hongo con una alta capacidad de tolerar un amplio rango de temperaturas. McBeath y Adelman aislaron una cepa en los suelos de Alaska, y a pesar de ser un aislamiento de climas fríos, registrando un crecimiento aún a los 4 °C, toleró una temperatura máxima para su desarrollo de 33 °C. Sin embargo, el hecho de que logre crecer a una temperatura diferente a la del sitio donde fue aislado, no es garantía que exprese su antagonismo hacia un patógeno determinado; Acevedo y Arcia demostraron que aislamientos en zonas frías no son eficientes biocontroladores en zonas cálidas y viceversa. Así mismo, en trabajos realizados por Rodríguez y Arcia se refleja que no necesariamente las temperaturas óptimas para el crecimiento (25 a 30 °C), son las temperaturas óptimas para expresar su antagonismo, ya que esas mismas cepas de *Trichoderma* mostraron una habilidad antagónica prácticamente nula a 30 °C. (Castro & Rivillas, 2012)

2.3.2 Necesidades nutricionales de *Trichoderma*. Es un hongo que consume otros hongos, materia orgánica y nutrientes secretados por las raíces. Este se desarrolla mejor con L-alanina, L-aspartico, ácido L-glutámico y ácido casamino como fuentes de nitrógeno. El desarrollo sobre NH_4^+ (ion de amonio) fue consistentemente superior al desarrollo sobre NO_3^+ (nitrato); en tanto que algunos aislamientos de *T. hamatum* y *T. Koningii* fueron incapaces de usar NO_3^+ . La mejor fuente de carbón fue la dextrosa, fructosa, manosa, galactosa, xilosa, ribosa y celobiosa; la capacidad de usar la sucrosa, melitosa y rafinosa fue relacionada a unidades taxonómicas. Todos los aislamientos probados descomponen rápidamente la celulosa. La cantidad de nutrientes influye en la densidad del micelio, pero no en el crecimiento (Facultad de Agronomía, 2000).

2.3.3 Mecanismos de acción. Los mecanismos de acción de biocontrol referidos para *Trichoderma* son: micoparasitismo es el principal mecanismo de acción de *Trichoderma*. Este agente biocontrolador envuelve al hongo a atacar y penetra sus células causándole un daño extensivo alterando la pared celular, incluyendo la degradación de esta. Retracción de la membrana plasmática de la pared. Desorganización del citoplasma. También actúa sobre la replicación celular al inhibir la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo. Benhamour (1993), afirmó que estos daños no son ocasionados por las sustancias producidas en el avance del antagonista, sino que los daños comienzan a observarse cuando ambos hongos (*Trichoderma* y *Rhizoctonia solani*) entran en contacto, reiterando que el mecanismo de acción es el micoparasitismo y no la antibiosis, como ha sido señalado por otros autores (Facultad de Agronomía de Venezuela, 2000).

2.3.4 Enzimas producidas por *Trichoderma* spp. La pared celular de los hongos está formada principalmente por quitina y β -1,3 glucanos en una matriz de material amorfo, por lo tanto, se espera que para el éxito de la degradación de la pared celular intervengan más de una enzima. *Trichoderma* spp. Es eficiente productor de polisacaridasas, proteasas, y lipasas, compuestos que pueden ser usados en la degradación de la pared de las células del patógeno. Se han purificado dos enzimas quitinolíticas (endoquitinasa y quitobiosdasa), obtenidas a partir de *Trichoderma harzianum*; Harán, Harman y Taylor (1996) se comprobó que el grado de inhibición del patógeno

fue proporcionado al nivel de quitina en la pared celular del hongo atacado, e igualmente se verificó que la combinación de las dos enzimas resultó ser sinérgica, aunque la mezcla de estas dos enzimas no es requerida para la inhibición del hongo atacado. Es interesante resaltar que las dos enzimas se enfrentaron a cultivos de *Trichoderma* y éste no se vio afectado por las mismas, a pesar de tener quitina en sus paredes (Facultad de Agronomía de Venezuela, 2000).

Tabla 4.
Clasificación Taxonómica de Trichoderma sp.

Reino	Mycetae
División	Eumycota
Clase	Hyphomycetes
Orden	Hyphales (Moniliales)
Familia	Moniliaceae
Genero	<i>Trichoderma</i>

(Agris, 2011)

Se aislaron e identificaron hongos asociados a esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, causantes de la pudrición blanca de la cebolla, con el fin de determinar la existencia de hongos con potencial antagonico nativos de la zona alta de Cartago Costa Rica. Este trabajo comprueba que es posible aislar hongos con potencial antagonico, como *Trichoderma sp.* para su control (Granados & Wang, 2008).

El control biológico representa una estrategia innovadora para el manejo de enfermedades de plantas agrícolas que se basa en la capacidad de un organismo para inhibir el crecimiento o destruir a un fitopatógeno. En el suelo existen diversos microorganismos con capacidad antagonica hacia microorganismos fitopatógenos pero el más estudiado es *Trichoderma*, debido a su fácil y rápido crecimiento, además de sus características de micoparasitar a otros hongos (Revista de Microbiología, 2009).

2.4 *Beauveria bassiana*.

Beauveria bassiana es un hongo que se reproduce en los biolaboratorios CREE (Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos) Cuba, mediante el cultivo sobre soporte sólido

empleando cabecilla de arroz o bagacillo de caña. Los productos de *B. bassiana* se emplean principalmente en el cultivo de plátano contra el picudo negro (Larrea, 1995).

2.4.1 Taxonomía de *Beauveria bassiana*. Es un hongo deuteromiceto que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo. Su poder entomopatógeno le hace capaz de parasitar a insectos de diferentes especies, causando la conocida enfermedad blanca de la muscardina. Pertenece a los hongos entomopatógenos y actualmente es utilizado como insecticida_biológico o biopesticida, controlando un gran número de parásitos de las plantas como son las orugas, las termitas, las moscas blancas, los áfidos, los escarabajos o los tisanópteros (tabla 5).

Tabla 5.
La taxonomía de Beauveria bassiana es la siguiente,

Reino	Fungi
División	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Cordycipitaceae
Genero	<i>Beauveria</i>

(Gaxiola, 2012)

La especie lleva el nombre del entomólogo italiano Agostino Bassi, el cual observó en 1835 la aparición de la enfermedad muscardina sobre los cuerpos de algunos gusanos de seda (*Bombyx mori*). En medios de cultivo específicos, el hongo *Beauveria bassiana* crece formando un moho blanquecino.

Ciclo infeccioso, el modo de acción de este hongo entomopatógeno consta de diferentes etapas. Cuando las esporas microscópicas del hongo entran en contacto con las células de la epicutícula del insecto, estas se adhieren e hidratan. Las esporas germinan y penetran la cutícula del insecto. Una vez dentro, las hifas crecen, destruyendo las estructuras internas del insecto y produciendo su muerte al cabo de unas horas. Tras ello, si las condiciones ambientales son favorables, pueden emerger del cadáver esporas del hongo con capacidad para ser propagadas de nuevo y re infectar a nuevos insectos.

2.5 Utilización en el control biológico de plagas

Algunos productos basados en el poder entomopatógeno de *Beauveria bassiana* se están empleando como insecticidas biológicos o biopesticidas registrados, si bien deben tenerse en cuenta, tanto el poder patógeno de cada una de las cepas, como la concentración de los productos y los tipos de formulación que protegen las esporas vivas del hongo.

Beauveria bassiana es un hongo deuteromiceto que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo. Pertenece a los hongos entomopatógenos y actualmente es utilizado como insecticida biológico o biopesticida controlando un gran número de parásitos de las plantas como son las orugas, las termitas, las moscas blancas, los áfidos, los escarabajos o los tisanópteros y tiene ciertas propiedades antagónicas con otros hongos.

Los biocontroladores *Trichoderma* sp. y *Beauveria bassiana* en fincas productoras de cebolla en Costa Rica, en donde determinaron cierto control de la enfermedad de *Sclerotium cepivorum* o pudrición blanca en la cebolla (Granados & Wang, 2008).

Sclerotium cepivorum es el agente causal de la enfermedad comúnmente conocida como pudrición de la raíz *Allium*. Se trata de un problema en todo el mundo en *Allium* spp. Puede ser muy devastador, ya que los resultados son grandes pérdidas de cosechas. Una vez que el campo tiene *Sclerotium cepivorum* es difícil y costoso producir. El hongo es favorecido por el clima fresco y sobrevive en el suelo como pequeñas y redondas estructuras conocidas como esclerocios. Estos esclerocios pueden sobrevivir en el suelo durante décadas (Granados & Wang, 2008).

2.6 Alelopatía

En las comunidades bióticas, muchas especies se regulan unas a otras por medio de la producción y liberación de repelentes, atrayentes, estimulantes e inhibidores químicos. La Alelopatía se ocupa de las interacciones químicas: planta-vertebrado, planta-planta, planta-insecto, planta-microorganismo y microorganismos-microorganismos, ya sean éstas perjudiciales o benéficas (Blanco, 2009).

La Alelopatía es pues, la ciencia que estudia las relaciones entre plantas afines y las plantas que se rechazan, utilizando sus ferohormonas para evitar el ataque de las diferentes plagas y enfermedades a las que pueden ser susceptibles.

En los tejidos vegetales hay ciertas sustancias que constituyen un sistema de defensa. Estas sustancias llamadas Aleloquímicos Alomónicos, son compuestos moleculares que actúan como

señales o como mensajeros de disuasión, produciendo efectos repulsivos, anti-alimentarios, tóxicos alteradores de la fisiología y/o comportamiento.

2.7 Cultivos duales

La prueba utilizada en los laboratorios de microbiología para determinar el crecimiento celular en una sola reacción, la prueba ofrece una detección altamente sensible y específica del patógeno a la interrelación con el antagonico. Se utiliza por medio de platos Petri, colocando material del patógeno y antagonico y se mide el crecimiento de ambos (Chirino, Rodriguez, & Garcia, 2011).

El control biológico *In vitro* en pruebas de antagonismo o cultivos duales del hongo *Trichoderma harzianum* cepa th-01 que fue proporcionado por el laboratorio de fitopatología y control Dr. Carlos Díaz Polanco. La prueba de antagonismo se realizó utilizando platos Petri, conteniendo 10 mm. de medio de cultivo PDA, en donde se sembró el hongo *Trichoderma harzianum* en un extremo y el hongo postcosecha (*Rhizopus stolonifer*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus Niger* y *Rizoctonia solani*) en el otro extremo del plato. Se encubaron a 25 °C y posteriormente se realizaron observaciones cada 24 horas hasta que su desarrollo fúngico cubrió completamente el plato Petri. Los resultados demostraron que debido al rápido crecimiento de *Trichoderma harzianum* y la capacidad de reducir el crecimiento de los hongos postcosecha ya mencionados, se considera un controlador biológico efectivo de enfermedades, aplicándolo antes de la cosecha para disminuir las pérdidas durante el transporte y estadía de la fresa (Revista de Microbiología, 2009).

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

En Guatemala los agricultores dedicados al cultivo de la cebolla tienen el problema de la reducción del rendimiento del cultivo por las distintas plagas y enfermedades que limitan la productividad. La pudrición blanca es una enfermedad de la cebolla que se caracteriza por afectar el crecimiento regular de las plantas, deteniendo su crecimiento, las hojas se marchitan cambiando el verde natural del tallo a un café claro; del tallo pasa al bulbo, en donde realiza su mayor daño, pudrición fétida y aguanosa y las raíces de tales plantas se observan podridas.

Los síntomas descritos en el párrafo anterior dieron como resultado la presencia de *Sclerotium cepivorum* al determinar la presencia *in vitro* de esclerocios, los cuales son corpúsculos de resistencia y pueden persistir en el suelo por más de 20 años. La persistencia de estos cuerpos en el suelo hace que la enfermedad sea una de las más problemáticas para combatir, debido a la ineficacia de productos sistémicos y de contacto por la resistencia del patógeno en sobrevivir en condiciones extremas. Por otro lado, no existe control genético que ayude a minimizar los daños por esta enfermedad (ICTA, 2010).

El problema específico que se quiere resolver es determinar la dosis en la cual las cepas de los hongos antagonistas propuestos desarrollan inhibición sobre el crecimiento y formación de micelios y esclerocios, debido a que se desconoce el grado de efectividad de la inhibición *in vitro*. Esta información es de vital importancia para dar continuidad al proceso evaluativo, para ser incluidas tales dosis que se determinen, en las evaluaciones de patogenicidad *in vivo* (bioensayos). Pruebas que son importantísimas para determinar la eficacia de los organismos biológicos, para que se puedan aplicar las evaluaciones en el campo.

En el IV censo nacional agropecuario establece que la producción nacional de cebolla para este período fue 1,335 hectáreas se obtuvieron 26,334 toneladas, ocupando Quetzaltenango el cuarto lugar en la producción a nivel nacional, contribuyendo con 3,309 toneladas. El cultivo de la cebolla tiene especial importancia en la región, y en el municipio de Zunil, el cultivo de la cebolla se ha generalizado, porque los cultivos hortícolas que se han ensayado como rotación de cultivos no tienen la rentabilidad que ofrece el cultivo de la cebolla. Por lo tanto el control de esta enfermedad es una necesidad prioritaria para la economía, no solo de Zunil, sino de muchas otras

zonas productoras que están en peligro, debido a que la enfermedad se está diseminando rápidamente. (INE, 2003).

Al no existir métodos de control cuando la enfermedad ya se ha establecido, es necesario generar y validar metodologías, como establecer el potencial del control biológico, para ser considerada la alternativa para integrarse al MIP en el cultivo de las *Allium*.

Hay que tomar en cuenta que se produce para la demanda local, nacional y se exporta al resto de Centroamérica y países vecinos, que la balanza económica (importaciones y exportaciones) ha sido positiva según el Banco de Guatemala (2013). De ahí la trascendencia de poder realizar esta investigación para generar tecnología para mejorar la producción.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del antagonismo *Trichoderma* sp. y *Beauveria bassiana* en el control de *Sclerotium cepivorum* en cebolla *in vitro*.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar el grado de antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Beauveria bassiana* hacia *Sclerotium cepivorum*, en la actividad de inhibir la formación de esclerocios.
2. Descubrir la dosis de inhibición de los hongos antagonicos sobre la formación de micelio del agente causal de la pudrición blanca de la cebolla.
3. Cuantificar el efecto del grado de patogenicidad de *Trichoderma* y *Beauveria* sp. en el control de la pudrición blanca en la cebolla en el bioensayo.

5 HIPÓTESIS

5.1 Hipótesis

Al menos en un tratamiento se enuncia el grado de patogenicidad de inhibición de *Sclerotium cepivorum* para ser considerada antagonista de esclerocios.

H Al menos una de las dosis de los dos hongos a evaluar inhibirá el crecimiento del micelio *in vitro*, a *S. cepivorum*.

H₁ Al menos una de las dosis de los hongos antagonistas inhibirá la formación de esclerocios *in vitro* a *S. cepivorum*.

H Al menos una de las dosis de los hongos antagonistas controlará los efectos de la *S cepivorum* (Pudrición blanca) en el bioensayo del cultivo de la cebolla.

6 METODOLOGÍA

6.1 Localización del trabajo

La investigación se realizó en el Laboratorio de Protección Vegetal de la estación experimental Labor Ovalle del Instituto de Ciencias y Tecnología Agrícola (ICTA). Este se localiza en la latitud norte 14° 5' 10" y longitud oeste 91° 30' 50" a una altitud de 2390 msnm. Se localiza a 4.5 kilómetros de la cabecera departamental de Quetzaltenango, carretera que conduce al municipio de Olinstepeque. Con un clima semi-frío, húmedo e invierno benigno y seco con vegetación natural de bosque. El suelo pertenece a la serie Quetzaltenango y al grupo de los entisoles. Su textura es franco arcilloso. Según Holdridge la clasificación climática es formaciones tropicales de bosque húmedo montano bajo. Informe técnico de laboratorio (ICTA, 2010).

6.2 Material experimental

Los principales materiales experimentales que se usaron fueron: la Pudrición de la cebolla; esta fue obtenida por medio de muestreos en el Cantón Las Cumbres Zunil, lugar donde se diagnosticó dicha enfermedad de las alliceae, en el cultivo de la cebolla, variedad F1, chata mexicana. Los antagonistas se obtuvieron, *Trichoderma* ICTALOI del cepario del laboratorio de Protección vegetal del ICTA y *Beauveria bassiana* Bb 08-01 y Bb 06-01 Obtenida de Cengicaña, medios de cultivo: Agar PDA para la reproducción *Beauveria bassiana*.

6.3 Factores a estudiar

Se evaluaron las dosis que permitieron la inhibición del crecimiento del micelio y de la alelopatía de *Trichoderma* y *Beauveria* con respecto a la formación de esclerocios pudrición blanca. Las dosis utilizadas para la investigación fueron de 3×10^6 , 5×10^6 , 7×10^6 , 10×10^6 de conidios por centímetro cubico.

6.4 Descripción de los tratamientos

Se realizaron tres ensayos diferentes, para determinar los antagonicos evaluados, cuál mantiene mayor control y la concentración efectiva para la inhibición del patógeno en mención y por último el bioensayo. El primer ensayo *en vitro* es para determinar cuál de las tres cepas de

antagonistas obtiene un óptimo control de la masa compacta de hifas (esclerocios) (tabla 6). La segunda es para determinar la dosis que mejor domina el crecimiento (micelio) del patógeno en mención y el tercer ensayo es el Bioensayo (tabla 7 y 8).

Tabla 6.

Descripción del primer ensayo in vitro para el tratamiento del conteo de esclerocios. En donde Beauveria bassiana 1 es la muestra 06-01 de Cengicaña y Beauveria bassiana 2 es la de código 08-01 y Trichoderma del cepario del ICTA. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010

TRATAMIENTO	FUENTE	REPETICIONES
1	<i>Trichoderma</i>	3
	<i>Beauveria bassiana 1</i>	3
	<i>Beauveria bassiana 2</i>	3
2	<i>Trichoderma</i>	3
	<i>Beauveria bassiana</i>	3
	<i>Beauveria bassiana</i>	3
3	<i>Trichoderma</i>	3
	<i>Beauveria bassiana 1</i>	3
	<i>Beauveria bassiana 2</i>	3
4	<i>Trichoderma</i>	3
	<i>Beauveria bassiana 1</i>	3
	<i>Beauveria bassiana 2</i>	3
5	<i>Trichoderma</i>	3
	<i>Beauveria bassiana 1</i>	3
	<i>Beauveria bassiana 2</i>	3
6	<i>Trichoderma</i>	3
	<i>Beauveria bassiana 1</i>	3
	<i>Beauveria bassiana 2</i>	3

Tabla 7.

Descripción del segundo ensayo in vitro para los tratamientos en las dosis. Donde se evaluó cuál de los antagonistas Beauveria bassiana y Trichoderma consiguió los mejores resultados de inhibición del micelio. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010

TRATAMIENTO	FUENTE	DOSIS
1	Pudrición Blanca	Patógeno puro
2	Pudrición Blanca	Patógeno puro
3	<i>Trichoderma</i>	3 X 10 ⁶
4	<i>Beauveria bassiana</i>	3 X 10 ⁶
5	<i>Trichoderma</i>	5 X 10 ⁶
6	<i>Beauveria bassiana</i>	5 X10 ⁶
7	<i>Trichoderma</i>	7 X 10 ⁶
8	<i>Beauveria bassiana</i>	7 X 10 ⁶
9	<i>Trichoderma</i>	10 X 10 ⁶
10	<i>Beauveria bassiana</i>	10 X 10 ⁶
11	Testigo químico	Iprodione
12	Testigo químico	Iprodione

Tabla 8.

Al término de los ensayos in vitro se utilizó la mejor dosis de los factores a estudiar con los dos antagonistas más prometedores para realizar el Bioensayo. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010

TRATAMIENTO	FUENTE	REPETICIONES
1	<i>Trichoderma</i>	18
2	<i>Beauveria bassiana</i>	18
3	Testigo enfermo	18

6.5 Diseño experimental

Se usó el diseño bloques completamente al azar en un arreglo de parcelas divididas. La asignación de los tratamientos o dosis se hizo de forma completamente aleatoria a las unidades experimentales. Este diseño es el más utilizado en la experimentación en laboratorio.

Debido a la aleatorización irrestricta, es conveniente que se utilicen unidades experimentales de lo más homogéneas posible, como parcelas de igual tamaño de manera de disminuir la magnitud de error experimental ocasionado por la variación intrínseca de las unidades experimentales (Rodríguez, 2004).

6.6 Modelo estadístico

El diseño completamente al azar se asignaron los tratamientos. Para evaluar tanto el crecimiento de micelio, como el de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* (Ruesga, Peña, Exposito, & Gardon, 2005).

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + A_j + E_{ij} + \beta_k + (A \beta)_{ik} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = Valor del i-ésimo nivel del factor A, j-ésimo nivel del factor β , y k-ésimo bloque (repetición).

μ = Efecto de la media general.

R_i = Es el efecto de los bloques.

A_j = Efecto del j-ésimo del factor A.

E_{ij} = Error Experimental del factor A.

B_k = Efecto del i-ésimo del factor B.

$(A \beta)_{ik}$ = Efecto de interacción entre ambos factores.

ϵ_{ijk} = Error experimental del factor B.

6.7 Unidad experimental

Fueron 54 platos Petri de 4.4 centímetros de radio en el primer ensayo, en los cuales se les vertió agar PDA para *Beauveria bassiana* y *Trichoderma* con 25 centímetros cúbicos del agar ya mencionado para cada plato Petri. El segundo ensayo se utilizaron 48 platos Petri y para el bioensayo se realizó en 3 cajas plásticas rectangulares de 20*20*55 cm.

6.8 Croquis

En las siguientes tablas representan la forma como fueron distribuidos los dos ensayos trabajados en el laboratorio y su disposición en la incubadora como la elaboración del bioensayo. En la (Tabla 9) se evaluó *Trichoderma* con las dos cepas de *Beauveria bassiana* para el control de los cuerpos fructíferos (esclerocios) y se determino el grado de patogenicidad de los antagonistas con respecto al patogeno en estudio (Hunter, 1982) (*Figura 1*) (*Figura 2*) (Tabla 12)

La tabla 10 se elaboró en base a los datos obtenidos del grado de patogenicidad en donde se cultivo la mejor cepa de *Beauveria bassiana* con *Trichoderma* con la dosificaciones propuestas para determinar su eficacia y alelopatia a *Sclerotium cepivorum* (Granados & Wang, 2005) (*figura 3*) (tabla 16)

Tabla 11 es el resultado de los datos obtenidos *in vitro* y llevado *in vivo* en donde se utilizo 3 cajas rectangulares de plastico, aplicando la mejor dosis exhibida en el laboratorio y con material vegetativo (cebolla) en presencia de la pudrición blanca (Tabla 18) (*Figura 4*)

Tabla 9.

Representa la forma que fue colocado en la incubadora el ensayo con los tres antagonistas con el fitopatógeno. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010

Parcela Pequeña	Parcelas Grande						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	
<i>Trichoderma A</i>	A101	A102	A103	A104	A105	A106	Repetición 1
<i>Beauveria b 1B</i>	B101	B102	B103	B104	B105	B106	
<i>Beauveria b 2C</i>	C101	C102	C103	C104	C105	C106	
Parcela Pequeña	Parcelas Grande						
<i>Trichoderma A</i>	A206	A205	A204	A203	A202	A106	Repetición 2
<i>Beauveria b 1B</i>	B203	B206	B204	B201	B202	B205	
<i>Beauveria b 2C</i>	C202	C204	C206	C203	C205	C201	

Parcela Pequeña	Parcela Grande						
<i>Trichoderma A</i>	A301	A306	A305	A302	A303	A304	Repetición 3
<i>Beauveria b 1B</i>	B305	B306	B302	B301	B304	B303	
<i>Beauveria b 2C</i>	C306	C305	C301	C302	C304	C303	

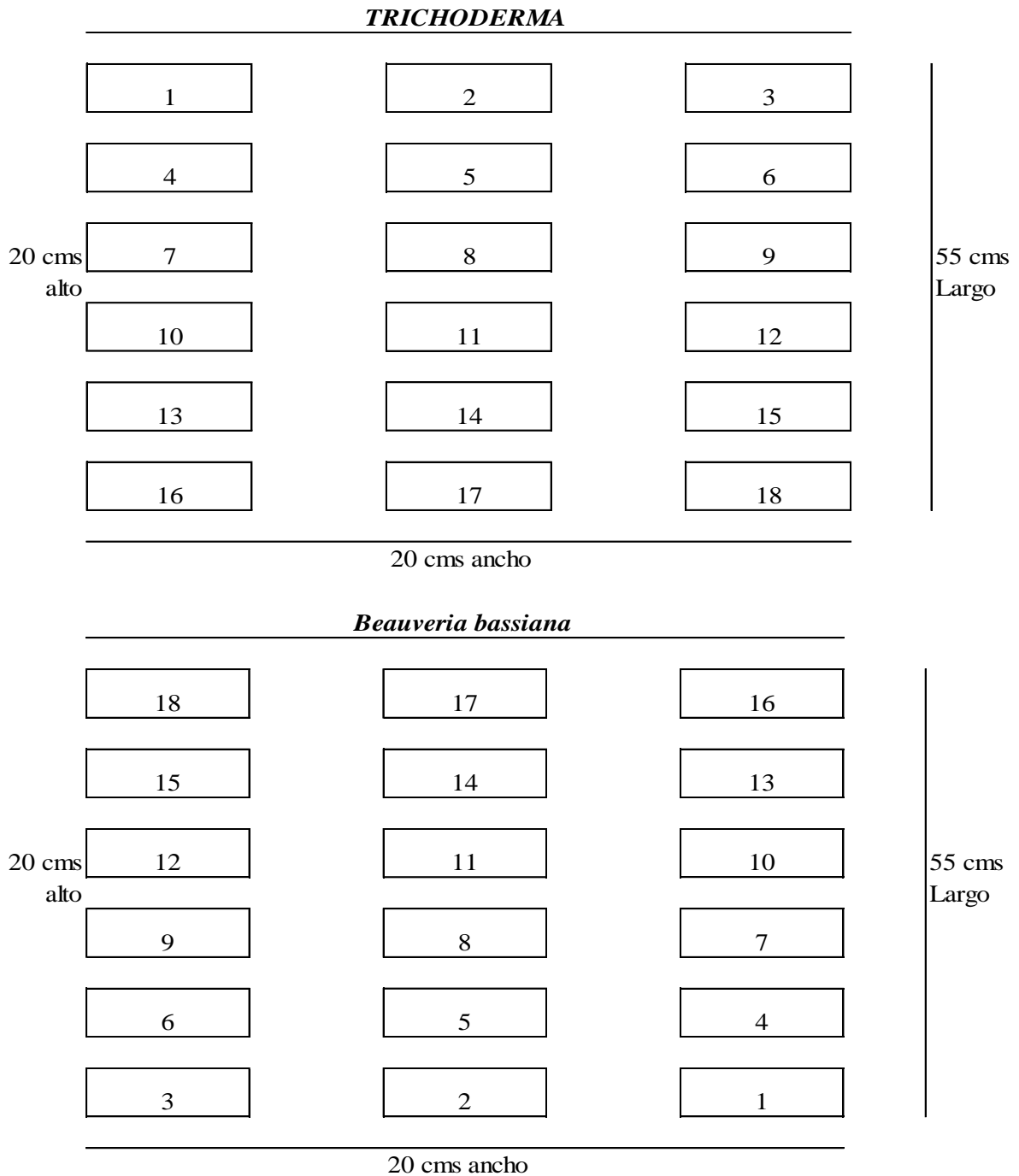
Tabla 10.

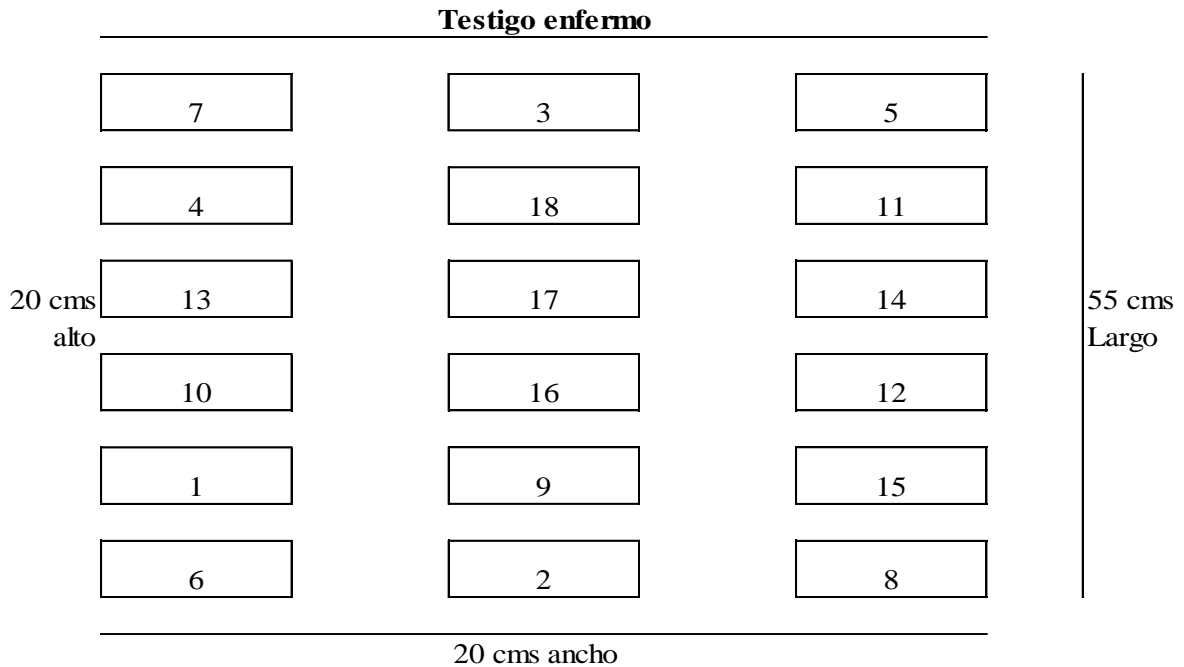
Representa cómo se ubicó dentro de la incubadora el ensayo de las dosis propuesto con sus cuatro repeticiones (R). Evaluado en el municipio de Olinstepeque, Quetzaltenango.2,010

Repetición 1		Repetición 2		Repetición 3		Repetición 4	
T I	101	T XII	1202	T VII	703	TVI	604
T II	201	T XI	1102	T I	103	TXII	1204
T III	301	T X	1002	T III	303	TV	504
T IV	401	T IX	902	T X	1003	TXI	1104
T V	501	T VIII	802	T IX	903	TIV	404
T VI	601	T VII	702	T II	203	TX	1004
T VII	701	T VI	602	T XII	1203	TIII	304
T VIII	801	T V	502	T IV	403	TIX	904
T IX	901	T IV	402	T VI	603	TII	204
T X	1001	T III	302	T V	503	TVIII	804
T XI	1101	T II	202	T VIII	803	TI	104
TXII	1201	T I	102	T XI	1103	TVII	704

Tabla 11.

Representación de la ubicación que se utilizó para el bioensayo, se procedió de la siguiente forma:
 Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010





6.9 Aislamiento y multiplicación de microorganismos

6.9.1 Procedimiento. El estudio inició con la obtención de los microorganismos. La recolección de los tejidos vegetales enfermos (bulbos) se realizó en los terrenos ubicados en la comunidad de Las Cumbres, municipio de Zunil, sitio en donde se determinó la presencia de *Sclerotium cepivorum*, se llegó cuando ya habían cosechado y se adquirió lo dejado como rechazo de los agricultores afectados, se pudo identificar por el micelio blanco, olor a descomposición, pudrición que crea dicha enfermedad y dentro del bulbo los esclerocios que se forman; se utilizó una lupa para poderlos observar en el campo y llevarlos al laboratorio para su identificación por medio del esterooscopio. *Trichoderma* sp. se adquirió del cepario del laboratorio de parasitología del ICTA labor Ovalle y la de *Beauveria bassiana* lo proporcionó el laboratorio de Cengicaña.

En el laboratorio se observó la presencia de los esclerocios en las muestras y luego se procedió al lavado, primero sumergirlos con cloro puro por tres minutos e inmediatamente enjuagarlos con agua destilada y después de haberlos secado bien con papel filtro se introdujeron en 4 platos Petri con PDA esterilizado para su reproducción y el resto de los esclerocios se colocaron en tubos de ensayo y se almacenaron en la refrigeradora a 5 grados centígrados para conservarlos.

Se estuvo investigando cómo romper la latencia a los esclerocios recolectados, según literatura revisada se tomó bulbos de cebolla sana y se partieron en cuatro para luego poder introducirle esclerocios y así enfermar el tejido y obtener los esclerocios del huésped. Después se colocó en una cámara de humedad para su desarrollo y se colocaron en una incubadora a 22 grados centígrados. Se hizo desinfección del laboratorio con cloro diluido a 50% piso y paredes, lavado y esterilizado de toda la cristalería (cajas Petri, pipetas, tubos de ensayo, pipetas Pasteur, biker y Erlenmeyer) que se utilizaron en la investigación.

Con los platos ya lavados se elaboró el PDA a una relación de 39 gramos por litro por medio de una balanza analítica y de lo que establece el productor como: Primero se realizó un precocinamiento de los agares por medio de una estufa agitadora en donde se llevó a unos 70 grados centígrados, la medición se realizó por medio de un termómetro de mercurio y con un agitador magnético, se esperó por un lapso de 15 minutos hasta que las muestras estuvieran ya homogéneas y precocidas para luego llevarlas a la autoclave para esterilizarlas en húmedo a unos 121 grados centígrados (15 PSI por 15 min). Después se introdujeron a la cámara de Flujo Laminar vertical, (marca Kagayaki®) previamente esterilizada (se roció con alcohol etílico 60 gl y durante 60 minutos se expuso a rayos germicidas de ultravioleta) para tomar las alícuotas de 25 centímetros cúbicos de los agares a las cajas Petri también ya esterilizadas, dejándolas enfriar en la cámara y con luz ultravioleta para evitar toda contaminación indeseable.

Se sembraron los medios conteniendo las conidias de *Trichoderma* y *Beauveria* sp., se incubaron a 21° grados (incubadora marca Hitachi) hasta observarse la formación de los cuerpos de fructificación. Los cuerpos fructíferos se diferenciaron, inicialmente por el color del talo, *Trichoderma*, verde musgo, *Beauveria* blanco. Se hicieron las transferencias del material filamentoso, hasta que se obtuvo, materiales fungosos benéficos en estado de pureza, extremo que se determinó por medio de la uniformidad del color de las colonias y análisis de morfo métrica.

El fitopatógeno se obtuvo a partir de las muestras que se colectaron de Zunil, se sacaron esclerocios de *S. cepivorum*, fueron lavados con cloro puro y enjuagados con agua destilada estéril. Se sembraron (cámara de flujo laminar vertical, estéril) en platos recubiertos, estériles y solidificados con papa dextrosa agar, donde crecieron ramificaciones blancas hasta los ocho días de incubación y formación de esclerocios a los 16 días más o menos por la variabilidad que presentó dicho hongo, se desarrolló a 21° C constantes.

6.9.2 Preparación de los ensayos de patogenicidad

a. Multiplicación masiva de microorganismos: Los hongos benéficos se multiplicaron, haciendo uso de materiales granos de trigo maduro y cortes pequeños de ramas de manzano para reproducir *Trichocerma* en este medio, entero sin daños por plagas. Los granos de mejor calidad fueron sumergidos por 24 horas en agua limpia para propiciar la rehidratación. Pasadas las 24 horas los granos hidratados se pre cocieron, hasta que se suavizaron. En seguida fueron trasladados, el grano y los cortes de las ramas del manzano a envases de vidrio, los que se esterilizaron en húmedo (en auto clave a 15 PSI por una hora). Al cabo del período de esterilización, se introdujeron en la cámara de flujo laminar estéril, para propiciar enfriamiento. Enfriados los granos de trigo y las ramas de manzano, se inoculó con los benéficos. De cada plato de Petri, se recortó cuatro bocados de PDA, con evidentes indicios de esporulación de *Trichoderma* y *Beauveria*, los que se introdujeron a tubos de ensayo conteniendo 10 ml de agua destilada estéril. Los tubos se agitaron fuertemente con las manos, para formar una solución de esporas. La solución preparada fue inoculada al trigo en granos y las ramas de manzano estériles a incubarse por 15 días, esperando a que mostraran evidentes signos morfológicos del hongo benéfico en multiplicación.

b. Preparación de las soluciones del ensayo in vitro: Se adaptó para los ensayos *in vitro* las dos calibraciones, se pesó el trigo en granos esporulados con los hongos benéficos y se calibraron hasta que en un litro de agua estéril destilada alcanzara la concentración 10×10^6 de esporas c/c. La calibración se hizo con el rayado de Neubauer mejorado del hematocimetro Spencer y luego se hirvió y filtró para hacer la infusión de hongos benéficos (Martínez, 2003).

El cálculo se realizó de la siguiente forma:

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Total de células contadas} \times 10,000}{\text{Número de cuadros}}$$

Se le agregó a la infusión 1 g/l de agua destilada de PDA, para disolver y se esterilizó a 15 psi. Se disolvió en 1.00 g/l de agua estéril destilada, de PDA, se esterilizó en húmedo (15 psi por 15 min.) y en la cámara de transferencia se calibraron.

c. Montaje del ensayo: En la cámara de transferencia, se midieron bocados de los agares utilizados recubiertos en forma pura con micelio de *S. cepivorum* y de los antagonistas. El número de cajas a inocular fueron 54, (16 días micelio y 24 días esclerocios).

6.9.3 Fase de bioensayo. La fase de bioensayo se inició con 1 metro cúbico de suelo que se esterilizó en un esterilizador de suelo a capacidad de campo.

El suelo estaba compuesto en tres partes (1: arena, 1: lombricompost y 1: parte de suelo de la serie Quetzaltenango). Se mezcló a mano y fue expuesto a 180 grados centígrados por 8 horas previo humedecimiento con agua limpia, se enfrió por una noche. Luego se llenaron 3 cajas rectangulares de 20*20*55 cm.

Con anterioridad a esto se utilizó una bandeja de reproducción, para la cebolla se colocó una semilla de cebolla por postura y peat most y agua para humedecer, utilizando un atomizador para regar, se mantuvo en un área controlada por plagas y enfermedades y con una temperatura de 15 grados centígrados promedio.

a. Preparación del inóculo de patógeno. El protocolo propuesto por Godoy-Lutz para el aislamiento del patógeno de la Costra negra fue adaptado a pudrición blanca Godoy-Lutz, Universidad de Nebraska (2003) citado por (Martinez, 2003).

Materiales

- Mechero
- Cintas Parafilm®
- Cámara de flujo laminar
- Bisturí
- Pinzas
- Papel toalla estéril
- Agua destilada estéril
- Beakers pequeños
- Medio de cultivo (agar agua)
- Puntas de transferencias

Procedimiento

- El inóculo base, se obtuvo de esclerocios en el medio PDA, de Zunil
- A los ocho días de observar el crecimiento de los hongos, se separaron cada uno de los aislamientos obtenidos y se observó aquel que no presentara clavos, el color del micelio debería ser blanco, cuando joven, los cuales son característicos de *S cepivorum*.

- El hongo se purificó en PDA y cada ocho días se realizó la purificación y para mantenerlo puro y activo, con el cual se inoculó al suelo estéril (180° centígrados por 8 horas a capacidad de campo) las cajas esterilizadas.

b. Metodología de producción y cuantificación del Inoculo. Se siguió la metodología propuesta por Godoy-Lutz (Martinez, 2003), para *R. solani*, para la producción y cuantificación de inóculos para producir *S. cepivorum*.

Producción de inóculo

Materiales

- Sacabocado de 5 mm de diámetro
- Medio de cultivo PDA
- Punta de transferencias
- 400 ml de agua destilada

Incremento de inóculo en PDA

- Con un sacabocado estéril se hicieron varios cortes en la periferia (zona de crecimiento) de la colonia de *S. cepivorum* y se transfirieron los cortes a platos de Petri con los medios de agar descritos (3 cortes por plato) y se posicionaron de manera equidistante.
- Se incubaron los platos de agar a 21° centígrados durante 48 horas.
- Al término de dos días y al haber aumentado cada colonia, se hicieron varios cortes por la periferia de cada colonia. Con la ayuda de un sacabocados, se hicieron recortes constantes y de una punta de transferencia se sembraron los bocados en platos recubiertos de agar.
- Los platos se incubaron sin sellar con Parafilm® bajo oscuridad durante 48 horas.

El protocolo propuesto por Takegami (2000) para la inoculación mencionado por Matínez, (2003), para *R. Solani*.

Materiales

- Platos Petri
- Agujas de transferencia
- Licuadora
- Tamiz # 40 de 425 µm

- Agua destilada estéril
- Tween 20
- Bomba de espalda

Procedimiento

- Al término de 48 horas de incubación de *S. cepivorum*, se licuó el micelio del patógeno. El micelio del medio se separó por filtración con una gasa.
- Se llevó el inóculo al volumen final requerido.
- Se colocaron 1 ó 2 gotas de Tween 20 por cada litro de inóculo para hacer una solución más uniforme posible.

c. Preparación del bioensayo. Los platos fueron rellenados con el suelo estéril en partes iguales de suelo, tal como se describió anteriormente. Luego se inocularon con una solución de micelio (ufc), con la ayuda de un atomizador y una pala de jardín se fue asperjando el suelo y mezclando, procurando obtener un suelo lo más uniformemente inoculado con *S. cepivorum*. Terminada la inoculación del patógeno las cajas plásticas fueron trasladadas a un ambiente húmedo para propiciar el crecimiento, en el suelo de los platos recién inoculadas con la pudrición algodonosa de las *Allium*; se incubaron por un lapso de 48 horas.

d. Inoculación de los antagonistas. Pasadas las 48 horas de inoculación del patógeno, fue nuevamente inoculado el suelo con *Trichoderma* y *Beauveria bassiana*, que fueron nuestros tratamientos propuestos. Con la ayuda de un atomizador fue asperjado el suelo con cada uno de los tratamientos para obtener uniformidad de inóculos benéficos en el suelo.

De acuerdo con Adams y Pipavizas (1971), se conoce poco acerca del nivel de inóculo, de patógenos de suelo, requerido para producir la enfermedad; sin embargo encontraron que 5 esclerocios g⁻¹ de suelo pueden causar una cantidad apreciable de Pudrición Blanca. Desde muchas décadas atrás se ha tratado de identificar cuáles hongos son capaces de colonizar y degradar esclerocios. Otras investigaciones establecen que, por el método de sacarosa, se pesan 25 gramos de suelo infectado; una densidad media es la de 6.6 esclerocios. Ferguson (1953) encontró que algunas especies de los géneros *Penicillium* y *Trichoderma* eran capaces de colonizar esclerocios vivos. Obregon (2001), informa que existe un efecto antagónico *in vitro* de *Trichoderma harzianum* sobre el patógeno (Granados & Wang, 2005).

Con la información obtenida se pesaron las cajas para determinar la cantidad de inóculo, se decidió colocar 5 esclerocios por 25 c/c suelo por caja. Esta densidad fue medida para ver el comportamiento. Las cajas pesaron 38 libras en seco, dando como resultado 3,450 esclerocios por cada una.

e. Siembra. Se trasplantaron 18 plántulas después que estuvieran por alrededor de 25 días para evitar todo tipo de sesgo por maceta de cebolla. Terminada esta actividad fueron llevadas las macetas a campo abierto.

Después de los 8 días se observó que las plantas estuvieran sanas y el comportamiento de estas. Se regó diariamente por 30 días.

f. Control de Plagas. Se presentó el daño foliar por la presencia del gusano medidor *Trichoplusia* sp el cual se controló por medio endosulfan (Thiodan) una medida Bayer por 16 galones de agua.

6.10 Variables de respuesta

Conteo de esclerocios. *In vitro* el conteo de esclerocios se realizó a los 20 días de incubación, por lo tanto, en ese 21vo día, el contenido de los platos en evaluación fueron filtrados los resultados del apareamiento de microorganismos, se deshidrataron a 37 grados centígrados. Con la ayuda de un microscopio de disección se contaron los esclerocios.

Bulbos sanos o enfermos. El bioensayo fue evaluado por medio de medir la incidencia de la patogenicidad de los antagonistas respecto a la Pudrición Blanca.

6.11 Análisis de información

6.11.1 Análisis estadístico. Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANDEVA), donde se determinó la significancia estadística ante la respuesta de las distintas dosis en presencia del inóculo de *Sclerotium cepivorum*. Habiendo obtenido significancia y altamente significativos los resultados en el análisis de varianza, además se realizaron las pruebas de medias de Turkey.

Análisis de Correlación.

Se realizó una parte de la estadística manualmente y análisis de varianza en el programa de computación Infostat para realizar los análisis de Varianza. Software estadístico creado en Argentina por el grupo. (InfoStat., 2008).

A los resultados de la investigación se les extrajo el logaritmo distribución log-normal que se define como una variable, cuyo logaritmo sigue una ley normal y ha sido ampliamente estudiada en biología y en otras áreas de trabajo, desde el punto de vista aplicado para ajustar datos hace referencia en su tesis doctoral. (Castro N. , 2005)

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con base al planteamiento del problema del proyecto y a la aprobación se realizaron las siguientes actividades. Según lo propuesto el 11-08-2010 se tomaron muestras para comprobar la presencia de la Pudrición Blanca, por medio de especímenes que contenían los síntomas característicos y esclerocios adheridos a los bulbos que el agricultor clasificó como rechazo en el Cantón Las Cumbres de Zunil.

Confirmado el patógeno y los antagonistas propuestos (*Trichoderma* sp. del ICTA y dos cepas de *Beauveria* sp. suministrado por Cengicaña), se inicia el proceso de evaluación el 5-1-2011. Se recuperaron aislamientos con carácter de pureza, la cual se determinó y compararon con las descritas por (Hunter, 1982). La descripción física realizada por los mismos autores. Tales descripciones son conformes con los aislamientos obtenidos y descritos de estas tres entidades fúngicas.

Por medio de la observación y características morfológicas y físicas de *Trichoderma* y *Beauveria* sp. se empezó la purificación de los hongos ya descritos y cuando se verificó la madurez de estos, se procedió a realizar la siembra para los ensayos.

7.1 Evaluación del antagonismo

Con base a lo propuesto por Hunter (1982), para la instalación de ensayos para probar la patogenicidad de microorganismos y al concepto de alelopatía y al hecho de que se ha dudado de la capacidad de los benéficos propuestos para ejercer la función de inhibidores de los esclerocios de la pudrición blanca, principal estructura de supervivencia y por lo tanto principal actor de las infecciones secundarias en el cultivo de las *Allium*.

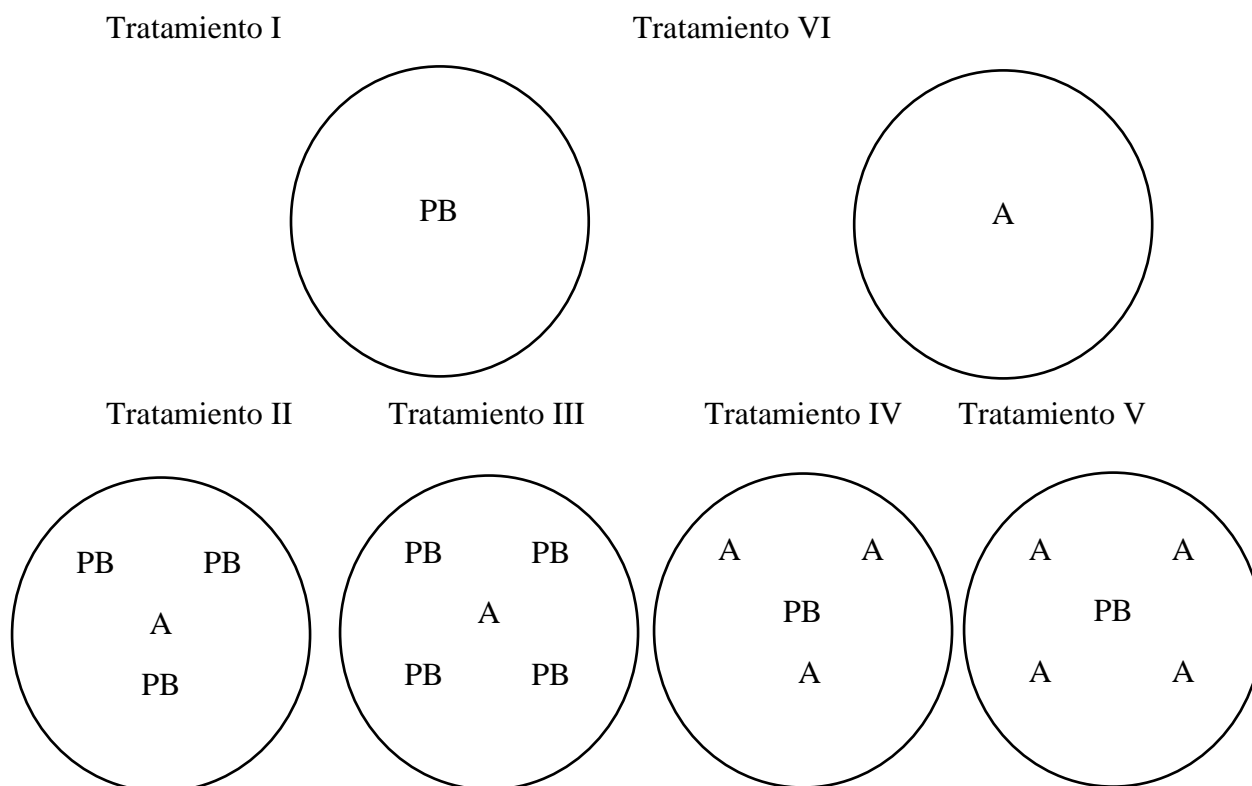


Figura 1. Diagrama de distribución de los antagonistas con relación a la Pudrición Blanca en prueba duales de los tratamientos, propuesto por (Hunter, 1982). Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango, 2,010.

Como se puede observar en la Figura 1, se utilizaron tres microorganismos para el ensayo en donde, tanto el tratamiento I y VI son los testigos de la enfermedad y del crecimiento de los antagonistas. Se recortaron círculos que fueron extraídos por medio de un sacabocados cilíndrico para uniformizar la superficie del inoculo. El tratamiento II fue expuesto de la siguiente manera: El antagonista en medio y la enfermedad en tres bocados en la periferia del plato Petri. El tratamiento III fue con cuatro bocados en la periferia del plato Petri de *Sclerotium cepivorum* y en medio el antagonista. En los tratamientos IV y V se utilizó el mismo esquema, lo único que varió fue, en lugar de colocar en medio al antagonista se colocó la enfermedad y en las periferias los antagonistas. Fundamentados (Hunter, 1982). Establecen seis grados de Patogenicidad, siendo los siguientes:

Grado 1. Describe que el patógeno estudiado cubre la totalidad de la superficie del medio; Este se tomó como testigo positivo por la función del crecimiento sobre la superficie del agar. Este tratamiento fue usado como comparador de que el inóculo usado fuera de los antagonistas y de su capacidad variable, durante el tiempo de evaluación y por el espacio cubierto.

Grado 2. Cuando el patógeno cubre unas dos terceras partes del medio de cultivo en relación con el antagonista que se encuentra en medio.

Grado 3. Cuando el patógeno investigado llena tres cuartas partes del medio o más. En relación con el antagonista.

Grado 4. Aquí se da lo inverso en el grado 2 porque es cuando el antagonista llena dos terceras partes del medio de cultivo en relación con la enfermedad descrita.

Grado 5. El antagonista evaluado llena o supera las tres cuartas partes de la superficie del medio, se ha determinado el mayor grado de inhibición.

Grado 6. Se refiere cuando el antagonista cubre por completo la caja Petri, nos sirve como testigo porque obtendremos aquí la mayor concentración del antagonista sin presencia de la enfermedad como se da la natural.

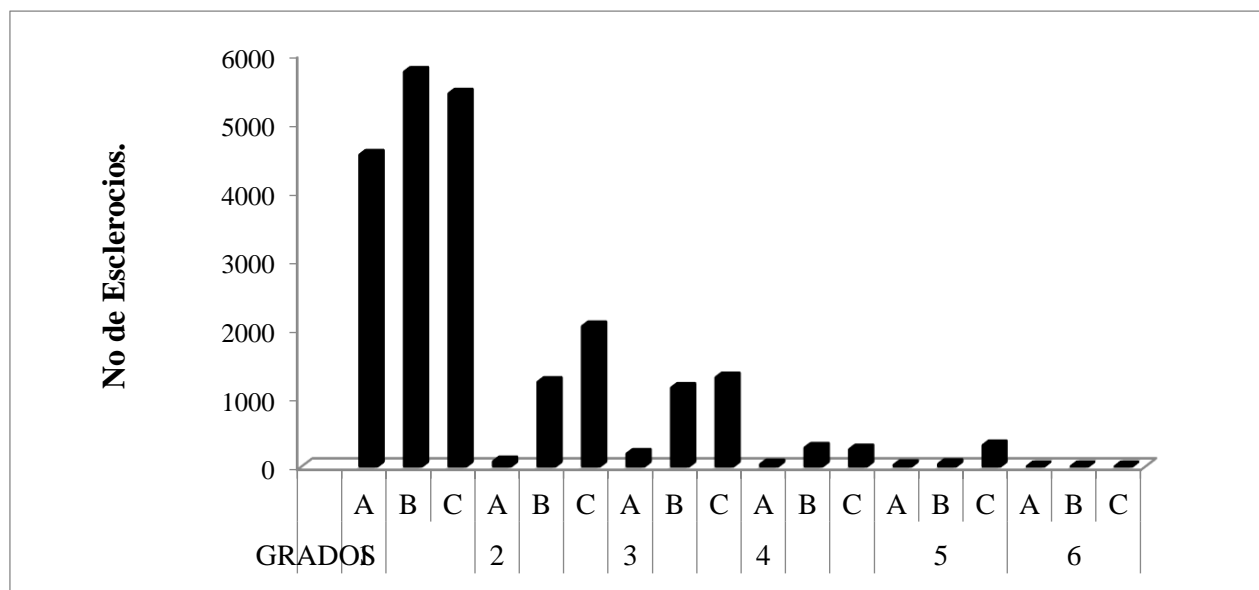


Figura 2. Medidas de las cantidades de esclerocios por tratamiento y el grado de inhibición de esclerocios por los antagonistas. A = Trichoderma, B = Beauveria I y C Beauveria 2. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010

Las cuantificaciones efectuadas, al microscopio de disección sobre la formación de esclerocios en los tratamientos confirman que *Trichoderma* ejerció funciones alelopáticas en los tratamientos esperados grados IV con la media de 30 esclerocios y 21 en la media del tratamiento V, a causa de mayor concentración de esporas contenidas en los bocados de los antagonistas, mayor fue la inhibición en la formación de esclerocios; esta aseveración la avala la comparación de los grados II con una media de 74 y para el tratamiento III 184 en los cuales solo se sembró un bocado que contuvo menor número de esporas, otra comparación digna de resaltar es el hecho de que si en un suelo carece de antagonismos, la Pudrición Blanca crece y se reproduce sin limitaciones porque fue un alto número de esclerocios que crecieron en el testigo con la enfermedad que fue de una media de 5236 esclerocios.

En el conteo de las dos cepas de *Beauveria*, quien tuvo un mejor comportamiento fue la cepa B = 06-01 en relación con la C = 08-01 en donde se obtuvieron 36 esclerocios y 308, en el tratamiento V se determinó 35 y 307 respectivamente. Las medias de los testigos con el patógeno se establecieron conteos de 5,744 y 5,426 en donde por medio de la prueba de medias se comprobaron cuál de las dos cepas fue la sobresaliente (tabla 12).

Tabla 12.

Cantidad total de las medias del número de esclerocios según el grado de patogenicidad y antagonista. Evaluado en el municipio de Olinstepeque, Quetzaltenango.2,010

GRADOS DE PATOGENICIDAD.						
Antagonista	1	2	3	4	5	6
<i>Trichoderma</i>	4537.33	73.67	183.67	30	21	0
<i>Beauveria 1</i>	5743.67	1229	1144.	272	36	0
<i>Beauveria 2</i>	5426.67	2040	1296.	248	308	0
Media	5235.89	1114.22	874.55	183.33	121.66	0

En ausencia de algún factor biótico de antagonismo, las propiedades alelopáticas de *Beauveria* afectan la producción de esclerocios, no en la magnitud de *Trichoderma*, a juzgar por los datos permite la supervivencia del potencial de inóculo, lo cual afectará nuevamente la capacidad productiva de los suelos (tabla 13).

Tabla 13.

Análisis de varianza, realizado al ensayo de la medición de los grados de patogenicidad para el control en la pudrición de esclerocios en los tratamientos. Evaluado en el municipio de Olinstepeque, Quetzaltenango.2,010

F.V	SC	GL	CM	Ft	Fc5% 1%
Modelo	68.70	29	2.37	12.49	
Bloques	0.99	2	0.50	2.04	3.40 – 5.61
Parcela grande	56.92	5	11.38	46.65**	2.62 - 3.90
Parcela G*Bloques	2.44	10	0.24	1.29	2.26 – 3.17
Parcela Pequeña	4.60	2	2.30	12.11**	3.40 - 5.61
ParcelaP/ ParcelaG	3.76	10	0.38	1.98	2.62 – 3.17
Error	4.55	24	0.19		
Total	73.26	53			

Coefficiente de variación 20.22 %

**Altamente significativo = 1%

La tabla 14. Confirma las observaciones anteriores, al determinar altamente significativo entre tratamientos, antagonistas y las variables del conteo de esclerocios de los tratamientos propuestos. Teniendo ya los datos del análisis de varianza se realizaron las comparaciones de las pruebas de medias.

Tabla 14.

Prueba de medias de Tukey, sobre el poder de inhibición de los 6 tratamientos aplicados en contra de Sclerotium cepivorum. Evaluado en el municipio de Olinstepeque, Quetzaltenango. 2,010

PARCELAGRANDE	MEDIAS	N	E E	
T VI	T	0	T	A
T IV	1.67	9	0.16	B
T V	1.68	8	0.16	B
T II	2.65	9	0.16	C
T III	2.74	9	0.16	C
T I	3.71	9	0.16	D

Test de turkey alfa 0.05 DMS = 0.72032 ERROR 0.2848 GL 38

La tabla anterior discrimina cual fue el tratamiento que mejor efectividad alcanzó, los tratamientos V y IV respectivamente, registraron el grado de mayor inhibición. Estos nos dan la certeza que, a mayor concentración del antagonista, mayor inhibición de *Sclerotium cepivorum*. Se formaron cuatro grupos dentro de la evaluación de medias. En *Beauveria* sp uno era el que se identificaba por Cengicaña 06-01 siendo esta cepa la mejor en comparación con la segunda que su código es 08-01 (tabla 15).

Test Turkey alfa 0.05 DMS = 0.47528.

Tabla 15.

Prueba de las medias para determinar cuál de los 3 antagonistas investigados tuvo dominio en la reducción de la producción de esclerocios. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010

PARCELA / PEQ	MEDIAS	N	E E
<i>TRICHODERMA</i>	1.75	18	A
<i>BEAUVERIA 1</i>	2.28	18	B
<i>BEAUVERIA 2</i>	2.43	18	B

Determinado el potencial de antagonismo se forman dos grupos, uno con mayor capacidad que el otro para el control de la pudrición blanca fue *Trichoderma* sp. y secundario *Beauveria 1* a pesar de que no hay una gran diferencia entre las dos cepas, se estimó la cepa con mejores datos de las medias. *Trichoderma* es un fuerte antagonista bajo condiciones *in vitro*, lo cual permite incluirlo en las evaluaciones de campo de producción.

La pudrición Blanca es una enfermedad que cuando entra en latencia depende mucho de condiciones ambientales para poderse desarrollar. Se comprobó en el laboratorio que necesitó horas de frío para poder salir del mismo. Se observó en el ensayo del conteo de esclerocios que se desarrolla en cualquier sustrato porque se utilizaron tres tipos de agar, prosperando sin ningún problema, y esto lo hace dominador en el suelo, los antagonistas propuestos inhibieron el crecimiento de la biomasa en mayor grado *Trichoderma* y menor *Beauveria* sp.

7.2 Evaluación de las dosis para el control de pudrición blanca

Para evaluar el antagonismo de *Trichoderma* y *Beauveria*, es imperativo reconocer como el micelio de la pudrición blanca es regulado en presencia de tales antagonistas, se compararon las medias de los radios de crecimiento del micelio, en platos De Petri, la velocidad de crecimiento sobre diferentes medios de cultivo. Se ha observado que la complejidad del medio influye en la producción del micelio y por tanto en la velocidad de crecimiento y producción de biomasa (Dominguez, 2007).

Clasificando a los dos antagonistas con los cuales trabajamos en la dosificación, realizamos este ensayo de la siguiente manera:

Primeramente, *Trichoderma* por los resultados obtenidos en el conteo de esclerocios y luego *Beauveria bassiana* 06-01 por haber tenido los mejores valores de las dos cepas de la misma especie. Aquí realizamos varios ensayos con los valores de concentración propuestos, sin embargo, los resultados fueron infructuosos. Por lo cual se decidió aumentar las dosificaciones de la siguiente manera: 3×10^6 , 5×10^6 , 7×10^6 , y 10×10^6 conidios por c/c. Y dos testigos e Iprodione que según Agrios (2011) Es una alternativa química sobre todo en Post cosecha. Los ensayos se arreglaron completamente al azar según Diseños Experimentales (Reyes, 1992).

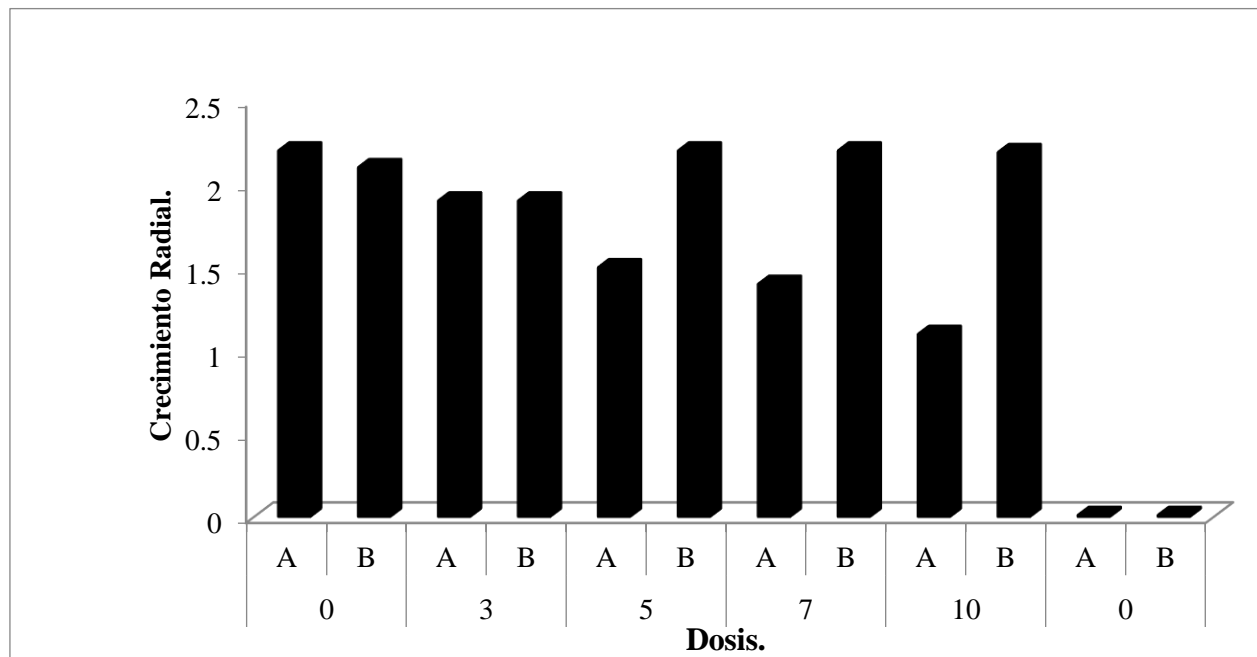


Figura 3. Medias de los radios de crecimiento en respuesta a la dosis de esporas inactivadas de los antagonistas. Evaluado en el municipio de Olinstepeque, Quetzaltenango, 2,010

La figura 3 representa los valores de las medias de los tratamientos en donde A es *Trichoderma* y B *Beauveria* b los valores con 0 son los testigos, tanto de la Pudrición Blanca como Iprodione, el que tiene valor 3 es el tratamiento de 3×10^6 , 5×10^6 , 7×10^6 y 10×10^6 . Se observa el desempeño que *Trichoderma* tuvo en la reducción radial en la inhibición del crecimiento del micelio y con el aumento de la concentración menor fue su crecimiento a comparación con *Beauveria* que no tuvo un control sobresaliente sobre *Sclerotium cepivorum* en este ensayo.

El resultado obtenido en este ensayo indicó que *Trichoderma* inhibió el crecimiento radial de *Sclerotium cepivorum* de un 1.11cm el tratamiento de 10×10^6 en comparación con el testigo en el tratamiento 0 que creció 2.20 cm en paralelo con *Beauveria* sp. su mejor desempeño lo obtuvo al reducirlo 1.90 cm. En los datos adquiridos de *Trichoderma* sp. y *Beauveria* sp. de la experimentación se halló que el testigo absoluto obtuvo una media de 2.20 cm en relación con el tratamiento de 3×10^6 de 1.90 cm, el tratamiento de 5×10^6 dio 1.54 cm, los tratamientos 7×10^6 y 10×10^6 cuantificaron 1.35 cm de *Trichoderma* respectivamente de ambas entidades antagonistas. El mejor lo obtuvo el tratamiento 10×10^6 de *Trichoderma* sp. con 1.11 cm la media.

Tabla 16.

Resultados del análisis estadístico (Andeva) sobre el crecimiento del micelio y las cantidades de dosis propuestas: Evaluado en el municipio de Olinstepeque, Quetzaltenango, 2,010

F.V.	GL	SC	CM	Fc	Ft 5%	1%
TRATAMIENTOS	11	14.64	1.33	501.43**	2.04	- 2.73
REPETICIONES	11	14.64	1.33	501.43**	2.04	- 2.73
ERROR	36	0.10	2.7 E-03			
TOTAL	47	14.74				

C.V = 3.08 %

** Altamente significativo

Se obtuvo un coeficiente de variación de 3.08 % que es un valor de alta confiabilidad y significancia entre los tratamientos. Podemos revalidar lo ya descrito con el primer ensayo, en donde se establece el antagonismo que constituye *Trichoderma* con el fitopatógeno estudiado. Comprobando con los valores estadísticos que funciona el control biológico en contra de *Sclerotium cepivorum*. Se realizó la comparación de medias, siendo los datos siguientes:

Tabla 17.

Prueba de las Medias de las dosis investigadas. Los tratamientos están ordenados en las dosis que obtuvieron una mayor alelopatía y/o micoparasitismo en contra de Sclerotium cepivorum. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010

TRATAMIENTOS	MEDIAS	N			
T 12	0.71	4	A		
T 11	0.71	4	A		
T 9	1.11	4		B	
T 7	1.35	4			C
T 5	1.54	4			D
T 3	1.90	4			E
T 4	1.92	4			E
T 2	2.09	4			F
T 6	2.18	4			F
T 10	2.19	4			F
T 8	2.20	4			F
T 1	2.20	4			F

En la Tabla 17. Se concluye que después de los tratamientos químicos, las mejores dosis fueron los tratamientos T 9 y T 7 en donde disminuyó el radio del crecimiento del micelio de *Sclerotium cepivorum* estos dos tratamientos son *Trichoderma* el primero a 10×10^6 y el segundo a 7×10^6 compuestos por seis grupos dentro del análisis de medias.

Luego de estas dos evaluaciones distintas, pero dando un resultado similar o igual, podemos deducir con seguridad que los antagonistas propuestos, el que tiene mayor inhibición a *Sclerotium cepivorum*, tanto en la formación, como crecimiento micelial es *Trichoderma* y que a mayor concentración su desempeño es alto y que de *Beauveria* no se obtuvo el resultado esperado de la inhibición del micelio y del control de los propágulos de la pudrición blanca.

7.3 Evaluación del bioensayo

De acuerdo a las dos evaluaciones concebidas *In Vitro*, se llegó a la fase de bioensayo las dos mejores cepas (*Trichoderma* sp. y *Beauveria* 06-01) por los resultados obtenidos en el análisis

de varianza y discriminación de medias, la dosis de 10×10^6 en ambas y el proceso ya descrito de la preparación del suelo, el 28-4-2011 se empezó con el trabajo propuesto. Para este ensayo se propuso la siembra de tres unidades experimentales de 18 plantas por tratamiento. *Trichoderma*, *Beauveria bassiana* y testigo enfermo como fue propuesto en la variable de respuesta, al efecto de la presencia del antagonista la cantidad de plantas sanas o enfermas, se registró la incidencia por cada unidad experimental. Los registros de incidencia determinaron que en la unidad experimental de *Trichoderma* tuvo de las 18 plantas sembradas una reducción del 11% en plantas infectadas de *S. cepivorum*, suelo inoculado *Beauveria bassiana* se registró en comparación de nuestro testigo, la enfermedad produjo una pérdida del 17% en comparación con el testigo enfermo, en donde se encontraba *Sclerotium cepivorum* en ausencia de los antagonistas, una pérdida de 44% de las 18 sembradas. El cultivo llegó a su etapa de cosecha.

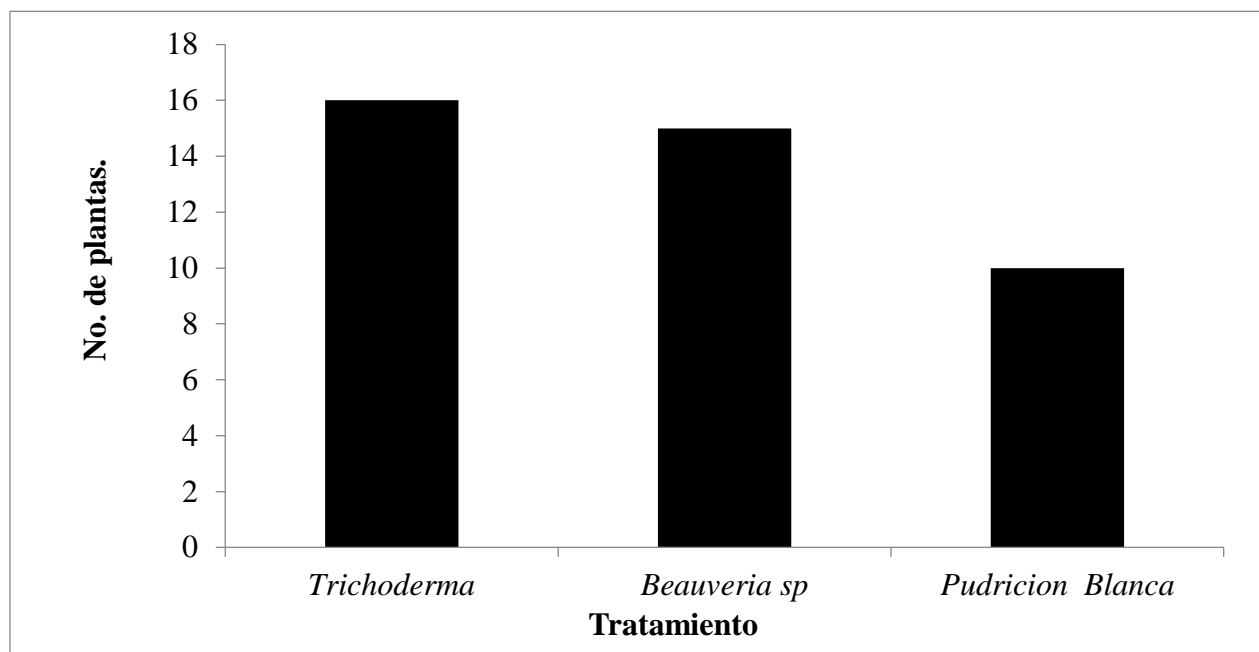


Figura 4. Número de plantas según la incidencia de infectadas en presencia de los antagonistas en el suelo. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010

Podemos observar que una vez más se logró determinar la efectividad que tiene *Trichoderma* en comparación con el tratamiento infestado de *Sclerotium cepivorum* y los resultados que causó *Beauveria sp*, denotando la influencia que ejerció *Trichoderma* en micoparasitar al patógeno

estudiado; estos datos confirman el potencial de los antagonistas de las cepas evaluadas, no dejando ninguna duda del control que obtuvo al reducir el número de plantas enfermas en el bioensayo.

Tabla 18.

Prueba de t para comparar a los antagonistas con la Pudrición Blanca in vitro para su control. Evaluado en el municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.2,010

Tratamiento	Patógeno	Media	Dif	t cal	t tab	Varianza	Grupo
<i>Trichoderma</i>	Pudrición Blanca	3.35-2.04	1.31	2.43	2.04	1.58/3.65	*
<i>Beauveria</i>	Pudrición Blanca	3.00-2.04	0.96	1.70	2.04	2.06/3.65	NS

G1 = 29 grados de libertad

* = 0.05

NS = No significativo

Dif = Diferencia de medias

t cal = Valor de t calculada

t tab = Valor de t tablas

En la tabla 18 determina los resultados obtenidos en la prueba de t con varianzas desiguales, donde el tratamiento que contenía a *Trichoderma* sp obtuvo el menor número de plantas enfermas y estadísticamente consiguió significancia intrínsecamente en el bioensayo. En relación con *Beauveria* sp inhibió a la Pudrición Blanca pero no alcanzó los niveles de la forma que lo realiza *Trichoderma*, no teniendo significancia *Beauveria* sp.

Emplear métodos biológicos para el control de enfermedades y plagas en función de organismos antagonicos, por medio de la utilización de microorganismos benéficos. El sentido de esta investigación es de minimizar la dependencia que se tiene de los productos agroquímicos y adoptar la utilización de lo que la naturaleza nos ha dado a los seres humanos para poder desarrollar en forma natural el control sin desbalancear el medio ambiente.

8 CONCLUSIONES

Los experimentos proponen la utilización de dos hongos antagónicos en contra de la Pudrición Blanca de la cebolla (*Sclerotium cepivorum*), se observó que *Trichoderma* y *Beauveria* sp. 06-01 obtuvieron los mejores resultados al disminuir considerablemente el conteo físico de los esclerocios. Los tratamientos IV, con una media de número de esclerocios de 183 y el tratamiento V con 121 la media del conteo, tuvieron un mejor control de dicha enfermedad considerablemente. En comparación del testigo que su media está por 5,236. Que *Trichoderma*, se observó que en este ensayo no dejó que se formaran más esclerocios dentro del plato Petri y delimitó bien un área de antibiosis, la media fue comparado con la mejor cepa de *Beauveria* sp.

En relación con la dosis, se llegó a comprobar que los tratamientos IX, VII, consiguieron la mayor reducción radial, siendo los tratamientos de *Trichoderma* a 10×10^6 y 7×10^6 *Beauvernia* solamente en el tratamiento IV. Se constató que a *Beauveria* le afecta las temperaturas altas trabajadas *in vitro*. Todas las dosis fueron realizadas por medio de la cámara de Neubauer para determinar las concentraciones de las soluciones propuestas. La media del radio que obtuvo *Trichoderma* fue de 1.11 cm en el cotejo que se le realizó al testigo, que fue de 2.20 cm. Estableciendo la alelopatía que ejerció a la Pudrición Blanca.

En el bioensayo se determinó que el porcentaje de plantas sanas inoculadas con la enfermedad descrita, *Trichoderma* tuvo dominancia en el porcentaje de plantas sanas de un 89% en relación con *Beauveria* sp que fue del 83%. En relación de los pesos de las plantas sanas *Trichoderma* estableció un mejor rendimiento, siguiendo *Beauveria* sp. El epílogo que nos demostraron los ensayos que a mayor concentración fue directamente proporcional la inhibición que tuvieron los antagonistas, pero en especial caso *Trichoderma* en el experimento en contra de la Pudrición Blanca, que puede ser una muy buena opción, utilizar microorganismos benéficos para el control de *Sclerotium cepivorum* y que cumple con los objetivos e hipótesis propuestos en esta investigación.

Con el 1% de error experimental de los ensayos se aceptan hipótesis, al menos uno de los antagonistas, tratamientos como dosis evaluadas inhibe la formación de esclerocios y el crecimiento radial de micelio *Sclerotium cepivorum*.

9 RECOMENDACIONES

Realizar otras investigaciones con los mismos antagonistas en el campo y en el cultivo del ajo, por ser de la misma familia botánica, que también esta enfermedad está haciendo estragos en el mismo.

Integrar *Trichoderma* en el manejo integrado de plagas (MIP) en el cultivo de la cebolla para que el agricultor cuente con lo necesario para desarrollar de mejor forma este cultivo.

Combinar este método con solarización o biofumigación u otro método para minimizar la dependencia de fungicidas químicos.

Realizar una segunda fase de la investigación, en donde se aumente la dosis de los antagonistas en otro cultivo y realizar tres aplicaciones dentro del ciclo del cultivo.

Proponer más investigaciones de esta índole debido a la importancia, no solo ambiental, sino promover alternativas para la producción nacional de cebolla y otros cultivos.

Las investigaciones que se sigan realizando en este campo ayudarán a comprender la complejidad del control biológico y crear formas en las cuales podemos utilizar a la naturaleza para nuestra conveniencia y producir más a menor costo, tanto económico, como en el área ecológica.

10 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo R, M. B. (2002). *Revista Iberoamericana de Micología No 19*. Recuperado el 14 de Julio de 2002, de E-mail: bmoreno@unet.edu.ve
- Agrios, G. (2011). *Fitopatología*. (G. Noriega, Ed.) Distrito Federal, México: Limusa.
- APG II. (2003). *An update of the Angiosperm phylogeny group classification for the orders and families*. Obtenido de <http://es.wikipedia.org/wiki/allium>
- Ayala, G. (2000). *Evaluación de cinco variedades y dos híbridos de cebolla*. Universidad San Carlos de Guatemala, Chiquimula. Tesis de grado Ingeniero Agrónomo. Guatemala. Recuperado el 15 de Octubre de 2013, de http://www.cunori.edu.gt/descargas/EVALUCIN_DE_CINCO_VARIETADES_Y
- Banco de Guatemala. (15 de Octubre de 2013). *Importaciones CIF Y Exportaciones FOB*. Obtenido de <http://www.Banguat.gob.gt>
- Barahona, J. (2015). *Evaluación de Productos biológicos para el control mosca de la cebolla*. para optar al título de Ingeniero Agrónomo, Zacapa, Guatemala. Universidad Rafael Landívar. Guatemala. Obtenido de <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2015/06/09/DePaz-Josue.pdf> Contenido de tesis
- Blanco, Y. (16 de Julio de 2009). La utilización de la Alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Cultivos Tropicales* (Volumen 27). Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215825001>
- Castro, M., & Rivillas, C. (Mayo de 2012). *Trichoderma spp modos de acción eficacia y usos en el cultivo de cafe*. (Cenicafe, Ed.) Recuperado el 19 de Mayo de 2012, de <http://hdl.handle.net/10778/577>
- Castro, N. (1 de Agosto de 2005). *Aportaciones al Estudio del proceso de difusión log-normal*. Tesis de grado, Doctora en Estadística., Universidad de Granada. Granada. España. Obtenido de http://www.ugr.es/~nrico/articulos/TESIS_NURIA_RICO_CASTRO.pdf

- Catedra de Fitopatología, U. d. (16 de Julio de 2001). *Evaluación de Trichoderma spp contra Rhizoctonia solani in vitro*. Obtenido de <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/web/cyt/cyt/2001/5-agrarias/a-51.pdf>
- Censa, D. F. (2004). *Selección de aislamiento de Trichoderma candidatos a biofungicidas para Rhizoctonia solani*. Recuperado el 21 de Julio de 2008, de bmcoca@censa.edu.cu
- Chirino, Y., Rodriguez, I., & Garcia, J. (2011). *Diagnostico de la calidad de un Bio preparado comercial del hongo Trichoderma harzianum*. Obtenido de <http://www.ovefit.com.ve/boletines/24-1/DOC3.PDF>
- Dominguez, R. (2007). *Velocidad de Crecimiento de tres cepas Pleurotus ostreatus utilizando rastrojo de maíz como sustrato*. Obtenido de XII Congreso de Biotecnología y Biongeniería Universidad Politécnica de Puebla: <http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/...II/.../CII-100.pdf>
- Facultad de Agronomía de Venezuela. (22 de Septiembre de 2000). *Trichoderma en el control biológico de enfermedades*. (U. d. Venuezuela, Editor) Recuperado el 16 de Julio de 2009, de <http://oocities.org/ecoluz/trichoderma14.htm>
- Facultad de Agronomía, U. d. (16 de Julio de 2000). *Productos formulados con hongos Biocontroladores*. Obtenido de <http://www.oocities.org/ecologialuz/trichoderma13.htm>
- Fitopatología, S. M. (16 de julio de 2004). *Efectos de Coniothyrium minitans Campell en esclerocios de Sclerotium cepivorum*. Obtenido de <http://www.redalyc.uaemex.mx>
- Gaxiola, L. (Julio de 2012). *Evaluación de aislamiento nativos de Beauveria bassiana para el control del gusano del fruto*. (M. e. Tesis de grado, Ed.) Obtenido de <http://www.tesis.ipn.mx/bitstream/handle/.../Luis%20Alberto%20Gaxiola%20Castropdf?>
- Granados, M., & Wang. (19 de Septiembre de 2005). *Aislamiento e identificación de hongos asociados a esclerocios de Sclerotium cepivorum causantes de la Pudrición Blanca Cartago Costa Rica*. Obtenido de <http://www.mag.go.cr/rev>
- Granados, M., & Wang. (19 de Septiembre de 2008). Obtenido de <http://www.ciaucr.ac.cr>

- Gudiel, R. (2010). *Efecto de cuatro dosis de Caolin sobre las poblaciones de Trips en el cultivo de la Cebolla*. Universidad Rafael Landivar, Tesis de grado para optar al título de Ingeniero Agrónomo, Jalapa, Guatemala. Obtenido de <http://bibliod.url.edu.gt/Tesis/06/03/Gudiel-Renan/Gudiel-Renanpdf> contenido de tesis
- Gudiel, V. (1987). *Manual Agrícola Superb* (sexta edición ed.). Guatemala, Guatemala: Productos Superb.
- Hunter, B. &. (1982). Illustrated genera of Imperfect Fungi. *Revista de Fhytopathology No. 72 April*, 363 al 456.
- ICTA. (2010). *Protección Integral Agrícola*. Quetzaltenango, Guatemala: Informe Técnico.
- INE. (2003). *IV Censo Nacional Agropecuario*. Guatemala: Instituto Nacional de Estadística.
- InfoStat. (14 de Octubre de 2008). Investigadores de Estadística Aplicada Universidad Nacional de Argentina. Cordoba, Cordoba, Argentina.
- Islas, L. (1994). *Fitopatología* (Vol. Primera edición). Distrito Federal, México: Limusa.
- Larrea, O. (19 de Septiembre de 1995). *Tecnología para la producción de Biopesticidas a base de hongos entomopatógenos y su control*. (L. d. entomopatógenos, Ed.) Obtenido de <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/HONG-ENT.htm>
- Martinez, J. (2003). *Manejo de Aislamiento de Rhizoctonia solani y evaluación de la resistencia a mustia hilachosa en frijol*. Tesis de grado, Ingeniero Agrónomo., Universidad Zamorano. Universidad Zamorano. Honduras.
- Montenegro, F., & Cardenas, T. (Octubre de 2014). *La producción de las semillas de la Cebolla (Allium cepa) una realidad en Santa Cruz del Norte. Cuba*. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193232493001>>
- Monterroza, J. (2011). *Efectos de cinco diferentes periodos de retirado de cobertura flotante de polipropileno sobre la producción del cultivo de la cebolla*. Universidad Rafael Landivar, Salama. Baja Verapaz. Tesis de grado de Ingeniero Agrónomo. Guatemala.
- Pantaleon, E. (2008). *Evaluación de cuatro niveles de nitrógeno y cuatro densidades de siembra en la producción y cultivo de la cebolla*. Universidad Rafael Landivar, Tesis de grado para

obtar el grado de Ingeniero Agrónomo. Guatemala. Obtenido de <http://bibliod.url.edu.gt/tesis/06/04/Pantaleon-Edgar-Leonel/Pantaleon-Edgar-Leonel.pdf> contenido de tesis

Revista de Microbiología. (20 de Septiembre de 2009). *Efectos antagonicos de Trichoderma sobre algunos hongos patógenos.* Obtenido de <http://www.scielo.org.ve/pdf/rsvm/v29n1/art07.pdf>-archivo

Reyes, P. (1992). *Diseño de Experimentos Aplicados.* México: Trillas.

Rodriguez, J. (2004). *Evaluación de Resistencia de Patrones Criollos de Aguacate (persea americana) a Phytophthora cinnamoni bajo condiciones de laboratorio.* Guatemala: Tesis.

Ruesga, I., Peña, E., Exposito, I., & Gardon, D. (2005). *Experimentación Agrícola.* La Habana, Cuba: Universitaria pag 300.

Urrutia, F. (2006). *Cambio del sistema de riego por superficie a goteo en la producción de cebolla.* Universidad Rafael Landivar, Tesis de grado, Ingeniero Agrónomo. La Laguna. El Progreso. Jutiapa. Guatemala.

Vargas, A. (2014). *Efecto de protectanes solares en epoca critica del cultivo de cebolla.* Tesis para obtar al titulo de Ingeniero Agrónomo, Aldea Manzanotes, Zacapa. Guatemala: Universidad Rafael Landivar. Obtenido de <http://biblio3.url.edu.gt/Tesario/2014/06/11/Vargas-Alexpdf> contenido de tesis

Vasquez, W. (2006). *Evaluación agro económica de cinco variedades de cebolla en invernadero y a campo abierto.* Universidad Rafael Landivar, Tesis de grado para obtener el titulo de Ingeniero Agrónomo. Guatemala. Obtenido de <http://biblio3.url.gt/publiclg/tesis/2006/06/Vasquez-Wuilssonpdf> contenido

11 ANEXOS

GLOSARIO

Agar. Sustancia gelatinosa que se obtiene de las algas marinas y que se utiliza para preparar medios de cultivo nutritivos en los que se estudia y cultiva a los microorganismos.

Aislamiento. Separación de un patógeno a partir de su hospedante y su cultivo en un medio nutritivo.

Antibiótico. Compuesto químico producido por un microorganismo y que inhibe o mata a otros microorganismos.

Bioensayo. Uso de un organismo como prueba, para medir la infectividad relativa de un **patógeno** o la toxicidad de una sustancia.

Conidio. Esporas asexuales de un hongo formado en el extremo de un conidióforo.

Control biológico. Destrucción parcial o total de las poblaciones del patógeno por medio de otros organismos.

Esclerocio. Masa compacta de hifas que puede o no contener tejidos del hospedante, por lo común con una cubierta oscura y capaz de sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables.

Esporas. Unidad reproductiva de los hongos que consta de una o varias células, es análoga a la semilla de las plantas verdes.

Micoparasitismo. Parasitar o invadir a otro microorganismo.

Pudrición. Reblandecimiento, decoloración y con frecuencia desintegración de los tejidos de una planta suculenta como resultado de infección bacteriana o fungosa.

Resistencia. Capacidad que tiene un organismo para superar, totalmente o hasta cierto grado el efecto de un patógeno u otro factor perjudicial.

Saprofito. Organismo que obtiene sus nutrientes a partir de la materia orgánica muerta

Sustrato. Material o sustancia en la que un microorganismo se alimenta y desarrolla. Es también una sustancia sobre la que actúa una enzima.

FOTOS IN VITRO

Fotos del equipo de laboratorio utilizado del ICTA, Labor Ovalle. Quetzaltenango.

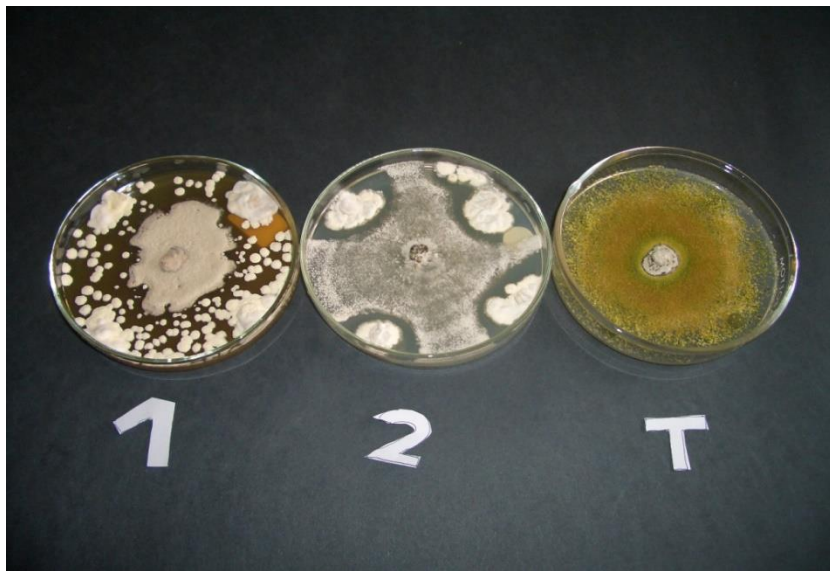


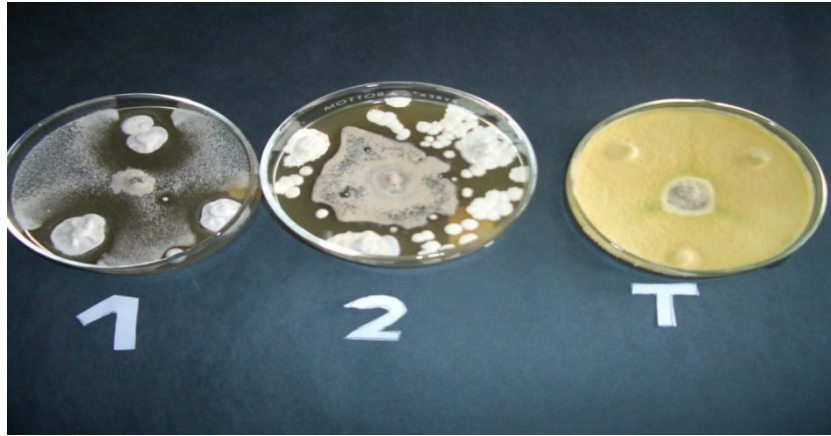




FOTOS DEL ENSAYO DE CONTEO DE ESCLEROCIOS

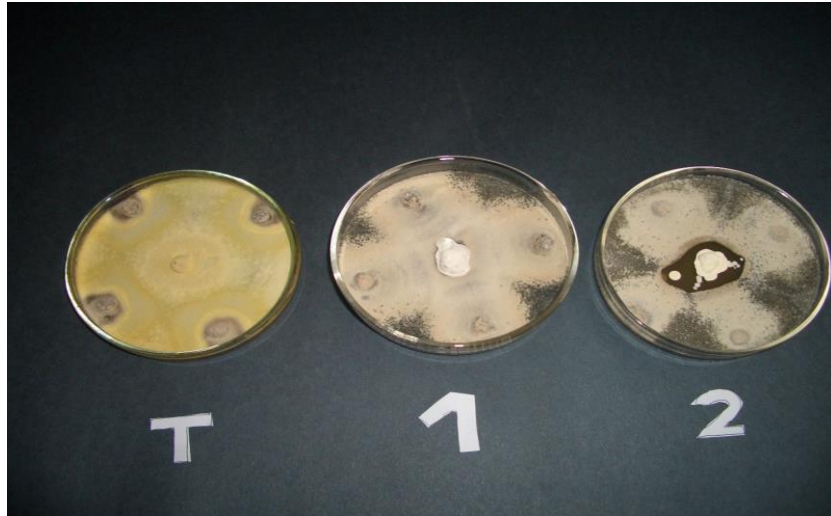
En esta fotografía el número 1 es *Beauveria bassiana* 06-08 y el dos *Beauveria bassiana* 08-08 y la letra es *Trichoderma* y colocados en la periferia del plato Petri según propuesta.





Estas fotografías demuestran la capacidad de *Sclerotium cepivorum* de reproducirse con una pequeña presencia de los antagonistas ya descritos.

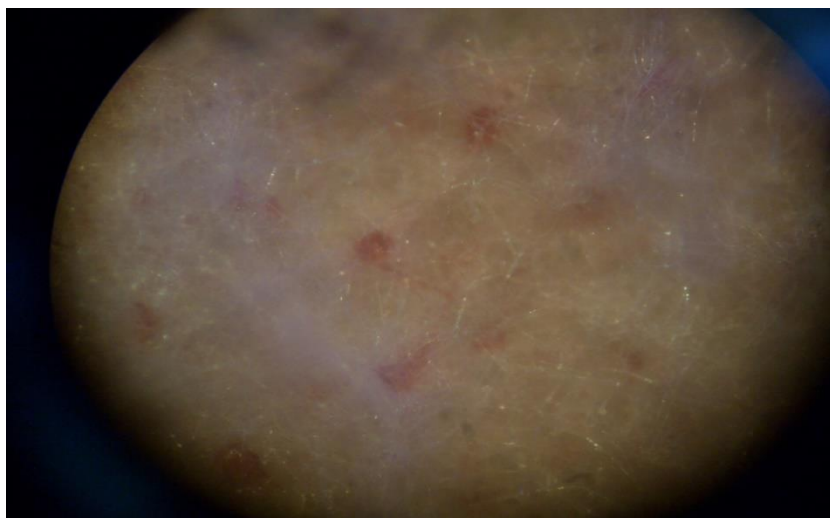




En el primer plato es *Sclerotium cepivorum*, el segundo la mejor variedad de *Beauveria bassiana* y el tercer es *Trichoderma*.



Foto tomada bajo el microscopio de la formación del micelio con la formación esclerocios.



FOTOS DEL ENSAYO DEL MICELIO

Se puede observar el crecimiento del micelio en donde de izquierda a derecha el primero es el testigo con el patógeno investigado y el segundo con *Trichoderma* y el tercer con Iprodione



FOTOS DEL BIOENSAYO

Las imágenes demuestran todo el proceso del cultivo desde plántula hasta su cosecha del ensayo.

