

Efecto bioestimulante y biocontrolador de una cepa local de *Trichoderma* sp. en el cultivo de lechuga

Biostimulant and biocontrol effect of a local strain of *Trichoderma* sp. in lettuce crop

Recibido: 26 de agosto de 2022

Aprobado: 4 de diciembre de 2022

Forma de citar: L. M Cuadros Sanabria, L. Castellanos González, C. O. Rozo García, "efecto bioestimulante y biocontrolador de una cepa local de *Trichoderma* sp. en el cultivo de lechuga", *Mundo Fesc*, vol. 13, no. 25, pp. 255-273, 2023. <https://doi.org/10.61799/2216-0388.1280>

Ludis Marcela Cuadros-Sanabria* 

Ingeniera Agronómica
ludis.cuadros@unipamplona.edu.co
Universidad de Pamplona
Pamplona, Colombia

Leonides Castellanos-Gonzalez 

Ingeniero Agrónomo. PhD
Universidad de Pamplona
Pamplona, Colombia
leonides.castellanos@unipamplona.edu.co

Carmen Omaira Rozo-García 

Microbióloga. MsC
omairaroz@unipamplona.edu.co
Universidad de Pamplona
Pamplona, Colombia

***Autor para correspondencia:**

ludis.cuadros@unipamplona.edu.co



Efecto bioestimulante y biocontrolador de una cepa local de *Trichoderma* sp. en el cultivo de lechuga

Resumen

La lechuga es una hortaliza de hojas muy propensa a enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, por lo cual es necesario buscar alternativas que permitan evitar las aplicaciones químicas entre las cuales está el hongo antagonista *Trichoderma* spp. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto bioestimulante y biocontrolador de una cepa local de *Trichoderma*, denominada T3 bajo tres concentraciones diferentes comparadas con una cepa comercial y un control. Se estableció un experimento con 5 tratamientos y 5 réplicas sobre un diseño en bloques completamente aleatorizado, donde se midieron variables morfológicas y fisiológicas, y se realizaron monitoreos de las variables de las enfermedades; incidencia, severidad y el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE) durante el desarrollo del cultivo. Los resultados obtenidos evidenciaron como mejor tratamiento la concentración alta de la cepa local a 5×10^8 UFC/m², seguida de una concentración media, de 1×10^8 UFC/ m², las cuales promovieron un aumento en el desarrollo de las plantas, así como un bajo porcentaje de enfermedades fúngicas, que no difirió de la cepa comercial. Se verifica que la cepa local de *Trichoderma*, T3, es buen biocontrolador para enfermedades fúngicas foliares, así como bioestimulante y que la concentración de la aplicación del antagonista influye en su eficacia.

Palabras clave: *Lactuca sativa*, antagonista, concentración, desarrollo, rendimiento, *Bremia lactucae*.

Biostimulant and biocontrol effect of a local strain of *Trichoderma* sp. in lettuce crop

Abstract

Lettuce is a leafy vegetable very prone to diseases caused by phytopathogenic fungi, so it is necessary to look for alternatives to avoid chemical applications, among which is the antagonist fungus *Trichoderma* spp. The aim of this research was to evaluate the biostimulant and biocontrol effect of a local strain of *Trichoderma*, called T3 under three different concentrations compared to a commercial strain and a control. An experiment was established with 5 treatments and 5 replicates on a completely randomized block design, where morphological and physiological variables were measured, and disease variables were monitored; incidence, severity, and the area under the disease progress curve (ABCPE) during the development of the crop. The results showed as better treatments the high concentration of the local strain at 5×10^7 CFU/m², followed by an average concentration of 1×10^7 CFU/m², which promoted an increase in plant development, as well as a low percentage of fungal diseases, which in some variables were statistically higher than the commercial strain. It is verified that the local strain of *Trichoderma*, T3, is good biocontrolator for foliar fungal diseases, as well as biostimulant and that the concentration of the application of the antagonist influences its effectiveness.

Keywords: *Lactuca sativa*, antagonist, concentration, development, performance, *Bremia lactucae*.

Introducción

Se conoce el papel de los hongos antagonistas como agentes de control biológico de hongos fitopatógenos entre ellos varias especies de *Trichoderma*. Al estimular los mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos de las plantas, este hongo afecta indirectamente a los patógenos del suelo. Gracias al rápido crecimiento en la mayoría de los aislamientos de *Trichoderma* y la secreción de metabolitos de diversa índole, este género se beneficia en cuanto a la competencia frente a los hongos patógenos, ya que los reprimen o eliminan del microambiente [1].

Con el uso intensivo de productos químicos como fungicidas, los agricultores han desarrollado soluciones rápidas para el desarrollo de sus cultivos, sin embargo, esta medida no es tan efectiva en algunos casos, además de producir una excesiva contaminación e impacto ambiental negativo [2].

Trichoderma spp. tiene tres modos de acción diferentes; competencia, antibiosis y micoparasitismo y además puede bioestimular las plantas y producir la inducción de producción de fitoalexinas, en dependencia de la especie [3].

Un estudio realizado en la Florida, Estados Unidos, demostró la eficacia de *Trichoderma* como biocontrolador de enfermedades en hortalizas causadas por patógenos del suelo, donde evaluaron dos cepas de *Trichoderma* (*T. atroviride* T11 y *T. asperellum* T25) contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in vitro y en planta. La cepa T25 mostró efectos inhibidores tanto in vitro como en la planta de tomate bajo invernadero, reduciendo de forma muy significativa el progreso de la enfermedad [4].

Por otra parte, se realizó una investigación con el fin de evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum* en el control del mildiu (*Pseudoperonospora cubensis*) del pepino (*Cucumis sativus* L.) en la provincia del Guayas, Ecuador, en la cual se analizaron variables como: porcentaje de infección de mildiu, eficacia de los tratamientos, longitud del fruto (cm), diámetro de fruto (cm), frutos por planta, rendimiento (kg por planta) y análisis económico. El mayor porcentaje de eficacia lo presentó el tratamiento de Benomyl 50 WP, - 400 g. ha⁻¹ con 84,4% seguido del tratamiento de Tricho D.- 500 g. ha⁻¹ con una eficacia de 84,24%. Mediante la relación beneficio-costos (RBC) obtuvieron los mejores resultados con el tratamiento de Benomyl 50 WP, - 400 g. ha⁻¹ con una RBC de 1,53 y el tratamiento de Tricho D.- 500 g. ha⁻¹ con una RBC 1, 50, lo cual indica que no hubo diferencia significativa entre el tratamiento químico contra el biológico, por lo tanto, se recomendó el uso de *Trichoderma*, como alternativa para evitar los tratamientos químicos [5].

Una investigación realizada en el Jardín Municipal de Cienfuegos resaltó el efecto bioestimulante que tiene *Trichoderma* en las plantas de *Gardenia jasminoides*. Se evaluó el efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai a una concentración de 10 g/Litro y

una suspensión del hongo con una concentración de $3,2 \times 10^8$ UFC/mL, aplicada sobre estacas de *Gardenia jasminoides*. Como resultado final se obtuvo que el bioproducto *Trichoderma harzianum* cepa 34 aplicado al sustrato y a la estaca subapical de *Gardenia jasminoides* es una alternativa que logra un 92% de enraizamiento a los 60 días, además de aumentar el número y calidad de las raíces [6].

En Colombia se ha trabajado en investigaciones sobre el uso de *Trichoderma* como bioestimulante en cultivos, como lo demuestra una investigación realizada en la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, donde se evaluó el efecto de *Trichoderma asperellum* sobre el crecimiento de plántulas de *Solanum lycopersicum* L., teniendo en cuenta la longitud de tallos y raíces de dichas plántulas, luego de la aplicación de cuatro aislamientos de *Trichoderma asperellum*: T25, T46, T84 y T109. Se logró evidenciar que sólo la aplicación del aislamiento T109 causó un incremento significativo ($p \leq 0,05$) del crecimiento longitudinal de tallos y raíces. El peso seco de las plántulas también fue estimulado desde la primera semana luego de la aplicación de T109. El crecimiento fue estimulado significativamente ($p \leq 0,05$) por la aplicación de 105 y 106 conidios/mL, pero no con aplicación de 104, 107 y 108 conidios/mL. Estos resultados indican que el estímulo del crecimiento producido por *T. asperellum* en plántulas de tomate, sólo ocurre con aislamientos particulares y en rangos de concentración específicos [7].

En otro estudio que se llevó a cabo en el Centro de Investigación Tibaitatá, en las instalaciones de CORPOICA, km 14 vía Bogotá – Mosquera, se evaluaron dos productos biológicos (*Enterobacter* sp., TVL-1 y TVL-2) con capacidad de suplir las necesidades de fósforo de la planta y un producto biológico (*Trichoderma koningiopsis* TH003) con capacidad de controlar *Sclerotinia* sp. Estos se compararon con los métodos tradicionales de fertilización y control químico (Fungicida a base del ingrediente activo procimidona), La adición de las bacterias mejoró el crecimiento de las plantas, sin que se demostrara diferencia por efecto de los *Enterobacter* TVL-1 y TVL-2. El tratamiento con el bioproducto *Trichoderma koningiopsis* TH003, presentó incidencia de *Sclerotinia* sp., inferior una severidad inferior al 15%; el testigo absoluto con fertilización presentó una severidad del 30%, por lo que se concluye que *Trichoderma koningiopsis* TH003 es un excelente biocontrolador contra las enfermedades que se presentan en el cultivo de lechuga [8].

Algunos estudios preliminares realizados en Pamplona tanto con cepas comerciales como nativas han demostrado la efectividad de *Trichoderma* como biocontrolador de enfermedades radicales en el cultivo de lechuga específicamente *Sclerotinia sclerotiorum* [9], [2].

Investigadores del laboratorio de microbiología de la Universidad de Pamplona aislaron una cepa local de *Trichoderma*, en el Huerto de la Escuela Normal Superior de Pamplona denominada T3. En condiciones de laboratorio ha demostrado ser más efectiva que otras para inhibir *Sclerotinia sclerotiorum*. Además, siguiendo las recomendaciones de

algunos autores [10], se ha estandarizado una tecnología artesanal para su reproducción sobre granos de arroz con vistas a realizar investigaciones en campo sobre la capacidad biocontroladora y bioestimulante de esta cepa. Teniendo en consideración estos antecedentes y, que aún son escasos los resultados de investigación y la adopción del uso del antagonista *Trichoderma* por los agricultores en Pamplona, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la acción biocontroladora y bioestimulante de la cepa local T3 en el mismo huerto donde fue aislada en tres concentraciones comparándola con una cepa comercial.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó durante el segundo semestre del año 2023 ejecutada bajo las condiciones agroclimáticas de Pamplona, Norte de Santander, en el Huerto de la Escuela Normal Superior, con ubicación geográfica de 7,36389° o 7° 21' 50" norte, 72° 39' 27" oeste, altura de 2369 m.s.n.m.

En un área seleccionada de conjunto con los agricultores del huerto se estableció un cultivo de lechuga variedad Capitata L. Se inició con una preparación mínima del terreno con un pase rotovator y la aplicación de cal, con el fin de reducir los niveles de acidez a causa de la descomposición de materia orgánica del cultivo anterior.

Se empleó una cepa local de *Trichoderma* sp. T3, existente en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Pamplona. La misma fue aislada de un suelo de cultivo de lechuga del propio Huerto de la Escuela Normal Superior en 2017. La cepa se reproduce sobre granos de arroz y logra una concentración de hasta 1,66 x 10⁸ UFC/g.

Se tuvo en cuenta el criterio de [11] para definir las concentraciones a emplear de la cepa local *Trichoderma* (T3), ya que esta investigadora recomienda para campos de producción una concentración de al menos 1x 10⁷UFC/ m², es decir, 1x 10¹¹ UFC/ ha.

Los tratamientos empleados se reflejan en la Tabla I.

Tabla I. Tratamientos empleados en el experimento

Tratamiento	Concentración	Dosis kg/ha	Abreviatura
Trichoderma comercial TRICHOX 10 WP	0,5 g/ha (5x 10 ⁶ UFC/m ²).	0,5	TC
Trichoderma cepa local a concentración alta	5 x 10 ⁷ UFC/m ²	5	TLCA
Trichoderma cepa local a concentración media	1x10 ⁷ UFC/ m ²	1	TLCM
Trichoderma cepa local a concentración baja	2 x 10 ⁶ UFC/ m ²	0,2	TLCB
Testigo	No aplica		S.T.

Se empleó un Diseño de Bloque Completamente al Azar (DBCA) de 5 tratamientos y 5 réplicas (parcelas). Las unidades experimentales fueron parcelas de 2 m de largo x 1 m de ancho, en las cuales se ubicaron surcos a 30 cm de ancho. La distancia de siembra fue de 30 x 30 cm, con 18 plantas por cada unidad una de las unidades experimentales.

Como tratamiento estándar se utilizó un bioproducto comercial a base de *Trichoderma harzianum* de nombre TRICHOX 10 WP, comercializado por Semillas Valle con Registro ICA 9121 [12], en presentación de 200 g, y una concentración de 1×10^8 esporas/g. El fabricante recomienda una dosis desde 0,2 a 0,5 kg/ha, y se empleó a 0,5 k/ha.

Antes de realizar el trasplante las plántulas fueron tratadas por inmersión de las raíces con las concentraciones correspondientes a cada tratamiento con el fin de que estas quedaran impregnadas con el bioproducto.

Con el uso de una bomba de espalda se realizó una aplicación al suelo de las parcelas antes del trasplante con los respectivos tratamientos. Después del trasplante las parcelas fueron tratadas cada 7 días, de forma foliar, abarcando toda la superficie del suelo, utilizando una bomba de aspersión manual como se ha referido anteriormente. A la bomba de aspersión se le añadió la cantidad de producto correspondiente a cada tratamiento, para garantizar la concentración prevista de cada bioproducto, considerando una solución final de 400 L/ha.

Para valorar el efecto estimulante de las tres concentraciones estudiadas se tomó en cuenta los parámetros de crecimiento y desarrollo de las plantas desde la siembra, cuantificando las variables de población, número de hojas y área foliar.

Sistema de variables de población, morfológicas y fisiológicas.

Se evaluaron las variables porcentaje de población, así como diferentes variables morfométricas (número de hojas, altura de la planta y superficie de la hoja), fisiológicas (área foliar) y de rendimiento (peso verde de la parte aérea).

El porcentaje poblacional o sobrevivencia de las plantas se estimó como un promedio de la cantidad de plantas existentes en las parcelas dividido por las plántulas sembradas, multiplicado por 100.

Para el número de hojas se realizó un conteo directo de las hojas que iban apareciendo en la medida que se desarrolló vegetativamente la planta.

La altura de las plantas se midió desde el cuello del tallo hasta el ápice de cada planta a evaluar.

La superficie de la hoja se estimó midiendo el largo y ancho de cada hoja por planta, luego se multiplicaron estos dos datos entre sí para obtener la superficie total por hoja.

El área foliar de la planta se estimó multiplicando el número de hojas por planta con el promedio de superficie foliar de las hojas.

El rendimiento de producción por parcela se estimó de forma directa, para lo cual se

pesaron todas las plantas cosechadas en de cada parcela.

Variables fitosanitarias

Para determinar el efecto biocontrolador de las tres concentraciones de la cepa local de *Trichoderma* sobre las enfermedades fúngicas de la lechuga, se realizaron monitoreos con muestreos comprendidos en espacios de siete días, donde se efectuó el respectivo reconocimiento de cada una de las enfermedades presentes en el cultivo de lechuga. Para esto las muestras de tejido enfermo se llevaron al laboratorio donde se emplearon técnicas rutinarias al diagnóstico, entre las que cabe destacar: preparación de cámara húmeda, revisión del patógeno bajo estereoscopio y microscopio para su respectivo reconocimiento y siembras en medios Agar Agua y PDA.

Se cuantificaron las variables de la enfermedad, incidencia y severidad y al final del ciclo del cultivo se estimó el Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE) para la incidencia y para la severidad de cada enfermedad. El muestreo se hizo a 5 plantas escogidas del centro de cada parcela, evaluando las enfermedades encontradas en el cultivo.

Se estimó el porcentaje de incidencia teniendo en cuenta el número de plantas afectadas sobre el número de plantas evaluadas [13]. La severidad se determinó con el empleo de una escala única de 6 grados (0= sana y 5 >75% de tejido foliar enfermos). Para estimar la misma por parcela se empleó la fórmula de Townsend y Heuberger [14]. Para la determinación del Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) de cada patología para la incidencia y la severidad con la fórmula de [15].

Recobrado de *Trichoderma*.

Para determinar el nivel poblacional de *Trichoderma* spp. presente en el suelo de cada parcela, se tomaron 5 submuestras de 50 g de suelo de 0-5 cm de profundidad en cada parcela, las cuales se mezclaron de tal forma que se obtuviera una muestra de suelo de 250 g por parcela o unidad experimental. Posteriormente se llevó al laboratorio y se conservó en frío durante un día.

Luego se procedió de la siguiente forma: A un tubo de ensayo con 10 mL de agua destilada estéril (ADE), se añadió 1 g de cada muestra previamente identificada. Se agitó lo más posible con el fin de homogenizar muy bien la mezcla. Se hicieron 2 diluciones seriadas obteniendo al final 3 (10⁻³), pasando de un tubo a otro 1 mL en 9 mL. Se utilizó además una dilución testigo de la cepa local 10⁸ UFC/g, de 10⁷ UFC/g al añadir 1g de *Trichoderma* en 10 mL de ADE. Después se realizaron dos diluciones más al añadir 1mL en 9 mL de ADE para obtener una dilución de 10⁵. UFC/mL.

Para la preparación de los medios se utilizó un Erlenmeyer de 250mL por cada muestra

en el cual se adiciono la cantidad de 100 mL de medio del cultivo seleccionado (agua destilada estéril y 20 g del medio de cultivo rosa de bengala) y se llevó a autoclave. Posteriormente se hizo la siembra en las placas, se trabajó en una cámara de flujo laminar para evitar contaminaciones, donde de cada muestra se tomó 1 mL de la 3ra dilución y se añadieron a 100 mL del medio de cultivo a una temperatura de 40°C, y se vertieron en tres placas de Petri (las placas se identificaron previamente con tratamiento, replica y número de repetición de la placa). De forma similar se hizo con la cepa local de referencia con la dilución 103 UFC/mL. Cada caja de Petri se llevó a incubación a 25°C.

Conteo de colonias: Se evaluó cada caja diariamente, con el fin de contar las colonias de *Trichoderma* sp. por placa. Las colonias de la cepa de *Trichoderma* con la cepa local sirvieron de referencia para las evaluaciones que se realizaron hasta las 96 horas. Los datos obtenidos de cada placa se registraron diariamente en Excel.

A partir de las colonias de las tres placas de cada unidad experimental y la dilución se calcularon las UFC/g de suelo y/o g del bioproducto de la cepa local T3.

Procesamiento y análisis estadístico de la información

Todos los datos obtenidos se llevaron a una base de datos en Microsoft Excel. Los porcentajes de población, número de hojas, altura de la planta, superficie de la hoja, área foliar y de rendimiento, así como de incidencia, severidad, ABCPE, así como también la información de las UFC/g, se sometieron a un análisis de varianza de clasificación doble previo análisis de los supuestos de normalidad y uniformidad de varianzas por las pruebas de Kolmogorov Smirnov (5% de probabilidad de error) y de Levene respectivamente. Cuando se detectó diferencia estadística en los ANOVAS al 5 % de probabilidad de error se realizaron comparaciones múltiples de medias por la prueba de Tukey con 5% de probabilidad de error. Se empleo el paquete estadístico SPSS para Windows.

Resultados y Discusión

Efecto bioestimulante de tres concentraciones de la cepa local de *Trichoderma* sp.

El porcentaje de población fue alto en todas las parcelas variando entre 92 y 97 %, lo que trajo consigo que no se evidenciara diferencia estadística entre los tratamientos, aunque a los 33 días después de plantado el cultivo (DDP), en el tratamiento donde se aplicó la cepa local de *Trichoderma* con concentración alta (TLCA) se alcanzó un 97% mientras que en las parcelas bajo los tratamientos de concentración baja (TLCB) y testigo (S.T.) se alcanzaron las poblaciones con valores relativos más bajos (92%) (Figura 1).

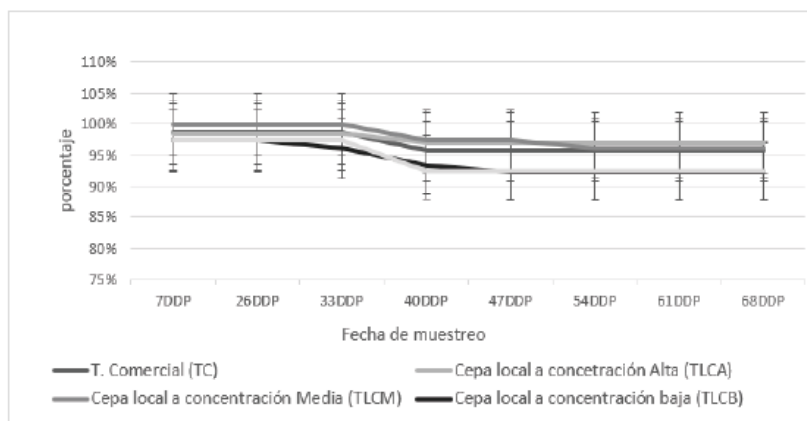


Figura 1. Porcentaje del tamaño poblacional entre tratamientos

Al analizar la variable altura de las plantas desde la S1 (7DDP) hasta la S8 (56DDP) se observó un aumento paulatino en todos los tratamientos, pero con diferencia estadística significativa en los tratamientos solo hasta la semana 3 (21DDP). La comparación múltiple de medias mostró que a los 7DDP los tratamientos donde se aplicó el bioproducto comercial y biopreparado a base de *Trichoderma* cepa local a concentración alta (TLCA) presentaban mayor altura con diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) con el tratamiento *Trichoderma* cepa local a concentración baja (TLCB). Los otros dos tratamientos (TCLM y S.T) quedaron intermedios desde el punto de vista estadístico con respecto a estos. En la S2 (14DDP) y S3 (21DDP), los resultados fueron muy similares, los tratamientos con TC y TLCA presentaron mayor altura con diferencia estadística significativa con el TLCB quedando intermedios entre estos desde el punto de vista estadístico los tratamientos TCLM y S.T. (Tabla II).

Tabla II. Resultado de la comparación de medias entre los tratamientos para altura de las plantas

Tratamientos	Altura de plantas (cm)							
	(7DDP)	14DDP	21DDP	28DDP	35DDP	42DDP	49DDP	56DDP
TRICHOX 10 WP	8,60 a	9,50 a	9,68 a	9,64 a	12,02 a	14,32 a	15,60 a	17,18 a
Trichoderma Local [Alta]	8,40 a	9,40 a	9,68 a	10,46 a	12,84 a	15,30 a	15,88 a	19,14 a
Trichoderma Local [Media]	7,20 ab	7,90 ab	8,54 ab	9,84 a	10,60 a	13,56 a	15,18 a	17,88 a
Trichoderma Local [Baja]	6,40 b	7,00 b	7,60 b	9,30 a	11,52 a	13,80 a	15,42 a	18,28 a
Testigo sin tratamiento	7,20 ab	7,80 ab	8,30 ab	9,30 a	10,80 a	12,84 a	15,00 a	17,20 a
Valor de F	5,579	5,734	3,593	1,134	1,915	1,855	0,457	2,804
Coef. De Variac. (%)	11,53	12,22	12,22	10,37	12,79	10,78	7,41	6,09
Error Típico *	0,17	0,20	0,21	0,20	0,29	0,30	0,22	0,21

* Medias seguidas de letras distintas en las columnas difieren entre sí por el test de Tukey ($P < 0,05$).

Estudios sobre *Trichoderma* spp, en el cultivo de tomate infieren que el diámetro y longitud de los frutos aumentó al emplear este hongo benéfico con aumento de la altura de la planta [16].

Este comportamiento se atribuye a que *T. harzianum* ayuda a aumentar el potencial

genético del cultivo, pues induce un mayor crecimiento de raíces beneficiando los rendimientos [5].

En las primeras semanas, de la S1 (7DDP) a la S5 (35DDP) el número de hojas fue aumentando con el desarrollo del cultivo, sin embargo, solo se observó diferencia estadística en las S2, S3 y S4. La comparación múltiple de medias mostró que en la S2 (14DDP) los tratamientos con TRICHOX y TLCA presentaban mayor número de hojas con diferencia estadística significativa con el resto de los tratamientos y que a su vez el TLM, presentó diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) con TLCB y S.T. A los 21DDP el tratamiento con mayor número de hojas resultó TLCA que se diferenció de los cuatro tratamientos restantes desde el punto de vista estadístico, mientras que en la S4 (28DDP) de nuevo el tratamiento TLCA logró el mayor número de hojas con diferencia estadística significativa con el testigo, pero no con los otros tres tratamientos (TC, TLM y TLCB) que quedaron intermedios entre estos dos (Tabla III).

Tabla III. Resultado de la comparación de medias entre los tratamientos para el número de hojas

N° de hojas por semana					
Tratamientos	S1 (7DDP)	S2 (14DDP)	S3 (21DDP)	S4 (28DDP)	S5 (35DDP)
TRICHOX 10 WP	5,720 a	6,800 a	8,60 b	11,92 ab	16,04 a
Trichoderma Local [Alta]	5,920 a	6,880 a	9,720 a	12,640 a	16,66 a
Trichoderma Local [Media]	5,840 a	6,400 b	8,20 b	11,80 ab	17,06 a
Trichoderma Local [Baja]	5,640 a	5,92 c	8,40 b	11,68 ab	14,64 a
Testigo sin tratamiento	5,68 a	5,88 c	8,24 b	10,04b	15,34 a
Valor de F	1,349	99,143	9,675	3,437	0,617
Coef. De Variac. (%)	3,88	1,64	5,23	9,93	17,47
Error Típico *	0,04	0,02	0,09	0,23	2,78

*Medias seguidas de letras distintas en las columnas difieren entre sí por el test de Tukey ($P < 0,05$).

El análisis de varianza de la variable superficie de las hojas mostró diferencia estadística desde la S1 hasta la S4 y no en la S5. La comparación múltiple de medias mostró que a los 7DDP los tratamientos TLCA y TLM manifestaban mayor superficie de las hojas con diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) con los tratamientos S.T. y TLCB. El Tratamiento TC no difirió de estos dos tratamientos y ni de TLCB, mientras que este último no se diferenció de testigo. A los 14DDP se evidenció mayor superficie de las hojas para TLCA con diferencia estadística significativa con el resto de los tratamientos. Se pudo observar que la superficie de las hojas de todos los tratamientos se diferenció entre sí en el siguiente orden, TLCA > TC > TLM > S.T. y > TLCB. A los 21DDP el tratamiento de mayor superficie foliar fue el TC, que se diferenció del resto de los 4 tratamientos que no se diferenciaron entre sí. A los 28DDP la mayor superficie de hojas correspondió para los tratamientos TC, TLCA y TLM que difirieron del testigo y no de TLCB (Tabla IV).

Tabla IV. Resultado del análisis de varianza entre los tratamientos para la superficie de las hojas.

Superficie de las hojas (cm ²)					
Tratamientos	S1 (7DDP)	S2 (14DDP)	S3 (21DDP)	S4 (28DDP)	S5 (35DDP)
TRICHOX 10 WP	40,65ab	86,75b	168,02a	229, 68a	378,21a
Trichoderma Local [Alta]	42,96a	95,62a	158,69ab	220, 81a	377,00a
Trichoderma Local [Media]	41, 25a	67,74c	151,39b	222,53a	365,64a
Trichoderma Local [Baja]	38,07bc	50,83e	131,77c	187,71ab	287,41ab
Testigo sin tratamiento	35,97 c	60,83 d	112,52d	165,33b	230,06b
Valor de F	19,93	215,91	36,74	7,53	7,25
Coef. De Variac. (%)	3,4	3,8	5,6	10,9	16,7
Error Típico *	0,27	0,56	1,64	4,48	11

*Medias seguidas de letras distintas en las columnas difieren entre sí por el test de Tukey (P<0.05).

Con respecto al análisis de varianza del área foliar de las plantas se presentó diferencia estadística ($p < 0,05$) en todas las semanas evaluadas (S2 a S5). La comparación múltiple de medias mostró que, a los 14DDP, los tratamientos TC, TLCA y TLMC tuvieron mayores valores de esta variable con diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) con los tratamientos TLCB y S.T. A los 21DDP los resultados mostraron que en los tratamientos TC, TLCA y TLMC las plantas presentaron una mayor área foliar en comparación con los demás tratamientos, aunque el tratamiento TLCB presentó el menor valor con diferencia con TLMC y no con ST. A los 28DDP, hubo mayor área foliar en las plantas bajo los tratamientos TC y TLCA, después le siguió desde el punto de vista estadístico TLMC y TLCB obtuvo valores intermedios, mientras que el tratamiento S.T. presentó los valores más bajos para esta variable. A los 35 DDP los tratamientos TC, TLCA y TLMC presentaron mayores valores de área foliar en las plantas con diferencia estadística significativa con S.T., mientras que TLCB no difería del testigo, ni de los tres primeros tratamientos (Tabla V).

Tabla V. Resultado del análisis de varianza entre los tratamientos para el área foliar de las plantas

Área foliar total de la planta (cm ²)				
Tratamientos	S2(14DDP)	S3(21DDP)	S4(28DDP)	S5(35DDP)
TRICHOX 10 WP	231,96a	590,10 ^a	1458,42a	2775,00a
Trichoderma Local [Alta]	250,28a	611,26 ^a	1529,76a	3016,66a
Trichoderma Local [Media]	241,18a	432,98b	1240,94b	2641,46a
Trichoderma Local [Baja]	205,54b	300,48c	1112,46b	2188,78ab
Testigo sin tratamiento	194,36b	357,86bc	923,80c	1661,46b
Valor de F	26,136	38,959	32,364	5,495
Coef. De Variac. (%)	4,6	10,7	7,7	20,8
Error Típico *	2,08	9,90	19,5	102,4

*Medias seguidas de letras distintas en las columnas difieren entre sí por el test de Tukey (P<0.05).

En el análisis de varianza reflejó diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) para la variable de peso de plantas cosechadas. La comparación múltiple de medias mostró que los tratamientos TC y TLCA presentaban mayores valores, con diferencia estadística

significativa frente a los demás tratamientos siendo los tratamientos TLMC y TLCB intermedios, mientras que el tratamiento S.T. presentó el valor más bajo en cuanto al peso de las plantas (Tabla VI).

Tabla VI. Resultado del análisis de varianza entre los tratamientos para el rendimiento de las hojas

80DDP		
Tratamientos	Peso en kg de las plantas cosechadas	Rendimiento equivalente en t/ha
TRICHOX 10 WP	1, 17a	5,85
Trichoderma Local [Alta]	1, 20a	6
Trichoderma Local [Media]	1,04ab	5,2
Trichoderma Local [Baja]	1,01ab	5,05
Testigo sin tratamiento	0,86c	4,3
Valor de F	4,48	
Coef. De Variac. (%)	13,6	
Error Típico *	0,02	

*Medias seguidas de letras distintas en las columnas difieren entre sí por el test de Tukey (P<0.05).

Se verifica el efecto bioestimulante que tiene Trichoderma sobre el cultivo de lechuga, ya que las plantas cosechadas en las parcelas bajo los tratamientos TC (Trichoderma comercial TRICHOX) y TLCA (Trichoderma local concentración alta) presentaron mayor rendimiento en comparación de los demás tratamientos, lo cual indica que el efecto fue positivo a una concentración de Trichoderma cepa local 5×10^7 UFC/m² y 5×10^6 esporas por m² de TRICHOX, aunque estos dos tratamientos no difieren estadísticamente de TLMC y TLCB, si se obtiene 1 t/ha más de rendimiento.

Los resultados se corresponden con otros investigadores [17], quienes verificaron que el tratamiento con Trichoderma sp. en lechuga registraba mayor contenido de materia seca, con rendimientos de 9,3 t/ha con diferencia estadística con el testigo no tratado. También se corresponden con otros resultados donde se obtuvieron 16,3 t/ha-1 en un tratamiento de Trichoderma sp. con una dosis de 500 g/ha-1 [5]. Estos resultados se atribuyen a que los biopreparados de Trichoderma favorecen la asimilación de nutrientes de las plantas [18].

Lo anterior demuestra que la cepa local T3, tiene efecto bioestimulante en el cultivo de lechuga al aplicar una concentración de 5×10^7 UFC/m², siendo esta la concentración más efectiva.

Efecto biocontrolador de las tres concentraciones de una cepa local de *Trichoderma* sp. La enfermedad mancha por Cercospora causada por el patógeno fúngico Cercospora longissima Cooke y Ellis, (1889) se presentó a partir de los 34DDP. A los 48DDP la incidencia bajó considerablemente en todos los tratamientos, pero a los 62DDP se manifestó nuevamente con una tendencia al incremento, para alcanzar sus valores más alto de incidencia a los 69DDP, disminuyendo ligeramente hacia los 76DDP en todos los tratamientos. Los valores del área bajo la curva del progreso de la enfermedad de la

incidencia (ABCPE-I) de *C. longissima* fueron relativamente menores en los tratamientos TC y TLCA (Figura 2).

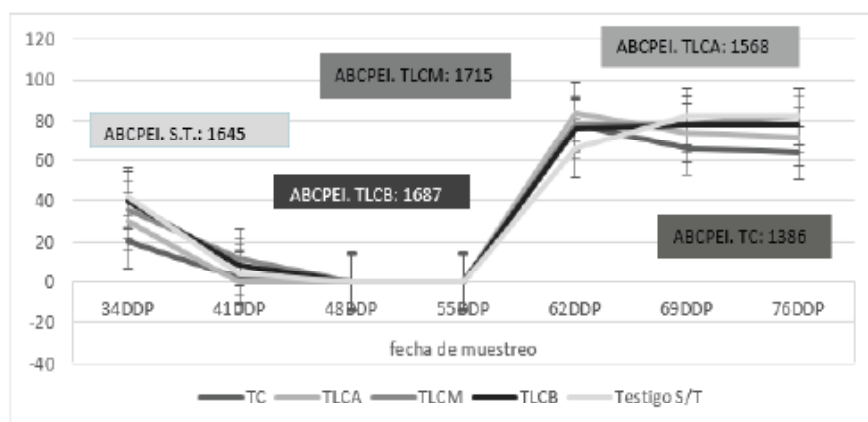


Figura 2. Curva epidemiológica de incidencia de la enfermedad causada por el patógeno *Cercospora longissima* Cooke y Ellis en las parcelas bajo los diferentes tratamientos

La curva epidemiológica de la severidad de la mancha por *C. longissima* muestra la presencia de la enfermedad con bajos niveles de severidad a los 34DDP, pero hacia el día 48DDP disminuyó llegando a cero en todos los tratamientos. La enfermedad reaparece a los 62DDP, incrementándose paulatinamente en todos los tratamientos, sin embargo, a partir de los 69DDP en los tratamientos TC y TLCA disminuyó ligeramente en comparación con los demás tratamientos que describieron una curva con una pendiente ascendente. Los valores del área bajo la curva del progreso de la enfermedad de la severidad (ABCPE-S) de *C. longissima* se observan relativamente más bajos en los tratamientos TC y TLCA, lo cual indica mayor influencia relativa del efecto biocontrolador de estos biopreparados (Figura 3).

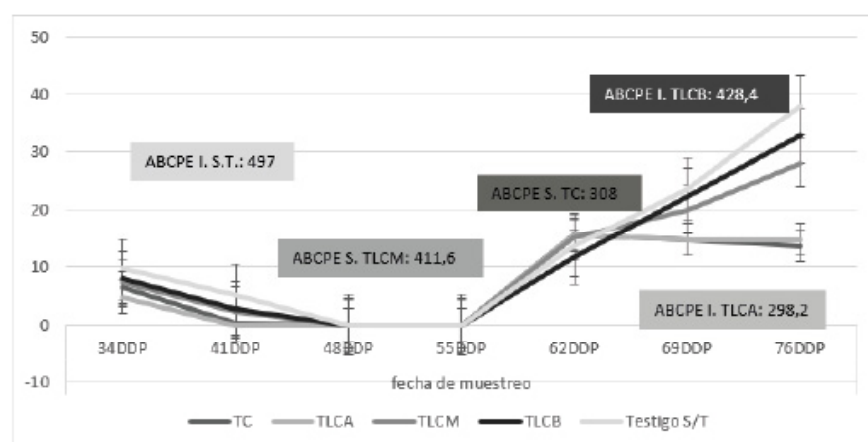


Figura 3. Curva epidemiológica de severidad de la enfermedad causada por el patógeno *Cercospora longissima* Cooke y Ellis en las parcelas bajo los distintos tratamientos.

La enfermedad mildiu vellosa causada por el patógeno del reino Cromista *Bremia*

lactucae se presentó a partir del día 41DDP solamente en el tratamiento TLCB, en los demás tratamientos se presentó a partir del día 62DDP incrementándose en mayor medida en las parcelas del tratamiento Testigo. Según los datos del área bajo la curva del progreso de la enfermedad de la incidencia (ABCPE-I), el tratamiento con el mayor valor relativo fue el testigo, muy relacionado con la mayor incidencia de la enfermedad durante todo el tiempo, caso contrario ocurrió en las parcelas bajo el tratamiento TLCA y TC que presentaron valores relativos más bajos (Figura 4).

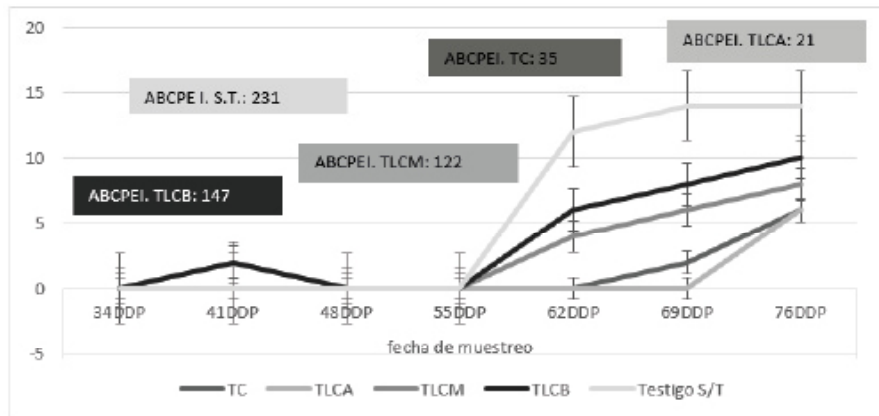


Figura 4. Curva epidemiológica de incidencia de la enfermedad causada por el patógeno *Bremia lactucae* Regel, en las parcelas bajo los distintos tratamientos

En los tratamientos TLMC y TLCB la enfermedad se presentó a partir del día 62DDP y en los tratamientos TC y TLCA solo a partir del día 69DDP, sin sobrepasar el 2% de severidad. El área bajo la curva del progreso de la enfermedad de la severidad (ABCPE-S) de *B. lactucae* Regel, muestra que los mayores valores relativos se presentaron en las parcelas de los tratamientos S.T. y TLCB, los relativamente más bajos fueron en los tratamientos TC y TLCA quedando con valores intermedios el tratamiento TLMC, reflejando una influencia relativa de las dosis para la cepa local y un efecto similar de la cepa Local a dosis alta con la cepa comercial (Figura 5).

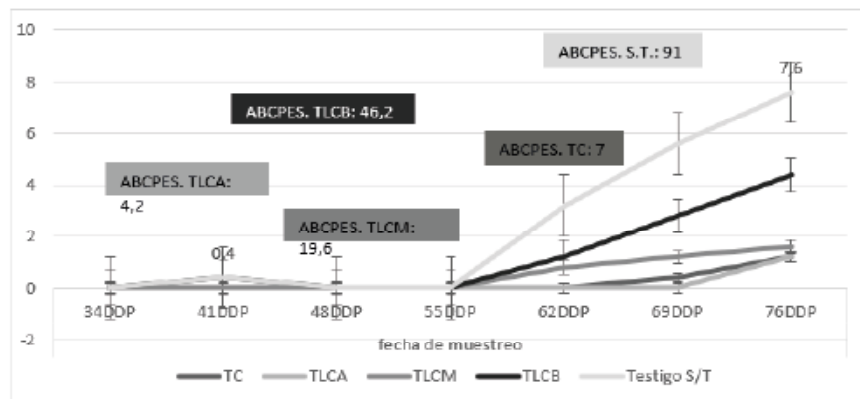


Figura 5. Curva epidemiológica de severidad de la enfermedad causada por el patógeno *Bremia lactucae* Regel en las parcelas bajo los distintos tratamientos.

En las figuras de la curva epidemiológica de las enfermedades foliares causadas por los patógenos *C. longissima* y *B. lactucae*, se evidencia que dichas enfermedades se presentaron en algunas de las parcelas bajo los distintos tratamientos solo a partir del día 34 DDP, al parecer favorecidas por las lluvias acaecidas durante la primera etapa del cultivo. Se pudo observar que en las parcelas bajo los tratamientos con *Trichoderma* T3 a concentración mayor a 1×10^7 UFC/ m² que fue el tratamiento TLCM y TLCA así como también el tratamiento comercial TC, las enfermedades se demoraron en aparecer y cuando aparecieron presentaron valores menores tanto en incidencia como en la severidad en comparación con los tratamientos TLCA, es decir, *Trichoderma* T3 a una concentración más baja con 2×10^6 UFC/ m² y el tratamiento testigo, lo anterior confirma el efecto biocontrolador que tiene *Trichoderma* T3, frente a estas dos enfermedades foliares que se presentan en el cultivo de lechuga.

Estudios realizados en pepino informan que *T. harzianum*, demostraron que funciona muy bien para el control de un mildiu veloso de las cucurbitáceas *Pseudoperonospora cubensi* (Berk. & Curt.) a dosis de aplicación similares a los empleados a la dosis media de la cepa T3 y la dosis del bioproducto comercial [5].

Recobrado de *Trichoderma* spp. en el suelo en los tratamientos aplicados.

En todos los tratamientos se recobraron colonias similares a las de *Trichoderma* spp. El análisis de varianza mostró diferencia estadística entre los tratamientos $p < 0,05$ para el número de unidades formadoras de colonias del antagonista en el suelo. La comparación múltiple de media reflejó poblaciones significativamente más altas para los tratamientos TLCA y TLCM con relación al resto (Tabla VII).

Tabla VII. Resultado del análisis de varianza entre los tratamientos para el nivel poblacional de *Trichoderma* sp. presente en el suelo de cada parcela bajo los diferentes tratamientos.

Población de colonias 72 h	
Tratamientos	103 UCF/g
TRICHOX 10 WP	39,80 b
<i>Trichoderma</i> Local [Alta]	105,80 a
<i>Trichoderma</i> Local [Media]	208,0 a
<i>Trichoderma</i> Local [Baja]	1,60 b
Testigo sin tratamiento	12,80 b
Valor de F	32,140
Coef. De Variac. (%)	30,72
Error Típico *	6,73

* Medias seguidas de letras distintas en la columna difieren entre sí por el test de Tukey ($P < 0,05$)

En la tabla anterior se puede observar que hubo mayor nivel poblacional de *Trichoderma* sp. en las parcelas bajo los tratamientos TLCA y TLCM lo cual permite corroborar la importancia que tiene el aplicar un microorganismo propio de la zona, caso de la cepa T3, lo que garantiza mayor colonización y permanencia en el sitio de aplicación. Este análisis de suelo demuestra la mayor adaptabilidad de la cepa aplicada ya que

el mayor número poblacional se presentó en los tratamientos donde se aplicaron las concentraciones más altas como lo es el TLCA y TLCM.

En otra investigación se realizó un recobrado de los tratamientos de *Trichoderma harzianum* y se obtuvo una población entre $2,11 \times 10^4$ y $2,25 \times 10^4$ UCF/g de suelo [6], lo que constituyó una evidencia de la presencia del antagonista como responsable de efecto sobre la inducción del enraizamiento, similar a lo ocurrido en la presente investigación.

De igual forma en otro estudio realizado [18], se demostró el nivel poblacional de *T. harzianum* en los surcos donde se trasplantaron las plantas tratadas con *T. harzianum* y los surcos con las plantas testigo, observándose una diferencia de la población de *T. harzianum* en el momento de la cosecha la cual fue significativa entre la situación testigo e incorporación al sustrato al 10% ($2,5 \times 10^3$ y $3,0 \times 10^3$ UCF/g) y la concentración del 30% ($4,1 \times 10^4$ UCF/g).

Como puede apreciarse las poblaciones recobradas donde se aplicó TLCA y TLCM fueron superiores (10^5 UCF/g), valores relativos superiores a los resultados de los estudios de referencia lo que da una idea del nivel de adaptabilidad de la cepa local bajo las condiciones del experimento.

Conclusiones

Los tratamientos con la cepa T3, TLCA y TLCM promovieron en la mayoría de los momentos de evaluación un aumento en número de hojas y mayor área foliar lo que se reflejó en mayor rendimiento del cultivo, mientras que la mayor altura de las plantas se evidenció en los tratamientos TLCA TLCM y TC, con lo que se demuestra el efecto bioestimulante de la cepa local y la influencia de la concentración o dosis de los tratamientos en las variables morfológicas y los resultados productivos de la lechuga.

No se presentaron enfermedades radiculares en el cultivo de lechuga durante el experimento, pero si dos enfermedades foliares causadas por los patógenos *Cercospora longissima* y *Bremia lactucae*, con menor incidencia y severidad desde el punto de vista estadístico en los tratamientos de TC, TLCA y TLCM en relación con los tratamientos de baja concentración y el testigo, lo cual permite inferir que la cepa local de *Trichoderma*, es buen biocontrolador también para estas enfermedades foliares y que la concentración de aplicación también influye en su eficacia.

En todos los tratamientos se logró recobrar el antagonista *Trichoderma*, incluso en el testigo, sin embargo, las poblaciones fueron estadísticamente superiores para los tratamientos que recibieron la cepa local *Trichoderma* sp. a las concentraciones alta y media, lo que confirma la conveniencia de usar este hongo antagonista con mayor adaptabilidad y permanencia en su ecosistema natural.

Agradecimientos

Agradecimiento a la Universidad de Pamplona que facilitó el uso de los laboratorios de microbiología los cuales nos sirvió como apoyo a esta investigación. Un agradecimiento muy especial a los agricultores del huerto de la Escuela Normal superior de Pamplona, Norte de Santander, por permitir ejecutar allí este trabajo de investigación.

Referencias

- [1] B. Martínez, D. Infante y Y. Reyes, "Trichoderma y su función en el control de plagas en los cultivos", *Rev. de protección vegetal*, vol. 28, n 1, pp. 1-11, febrero 2013
- [2] M. Pérez, "Efecto comparativo de una local nativa y otra comercial de *Trichoderma* spp. para el control de *Fusarium* spp. presente en un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*)", Universidad de Pamplona, Pamplona, 2021
- [3] C. O. Rozo y L. Castellanos, "Empleo de *Trichoderma* spp. para el control de enfermedades y producción más limpia en lechuga", *Rev. ambiental agua, aire y suelo*, vol. 11, n 2, pp. 24-38, 2021
- [4] A. Alvarado, W. Pilaloa, S. Torres y K. Torres, "Efecto de *Trichoderma harzianum* en el control de mildiu (*Pseudoperonospora cubensis*) en pepino", *Agronomía Costarricense*, vol. 43, n 1, pp. 101-111, Diciembre 2018
- [5] B. Navarro, F. Sosa, L. Castellanos, R. Soto y R. Hernandez, "Influencia de *Trichoderma harzianum* en el enraizamiento de *Gardenia jasminoides* N. W. Ellis", *Centro Agrícola*, vol. 37, n 3, pp. 23-28, julio 2010
- [6] S. Gómez, E. Gilchrist y S. Reynaldi, "Importancia del aislamiento y del rango de concentración de conidias en el efecto de *Trichoderma asperellum* sobre el crecimiento de plántulas de *Solanum lycopersicum* L.", *Rev. Colomb. Biotecnol.*, vol. 15, n 1, pp. 118-125, junio 2013
- [7] J. Otálora, D. Sanchez y J. Galindo, "Efecto de cepas del género *Enterobacter* sp. y *Trichoderma koningiopsis* en el rendimiento de *Lactuca sativa* Var *L. crispa* L.", *Rev. Temas Agrarios*, vol. 21, n 1, pp. 77-89, abril 2016
- [8] D. M. Parra, "Evaluación del antagonista *Trichoderma* spp., contra enfermedades radiculares de *Lactuca sativa* L. var. *Inybasea* (Hort) y *Capitata* L., en el municipio de Pamplona", Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia, 2018.
- [9] M. Irimia, L. Castellanos y A. Rodríguez, "Niveles de humedad, cepa y cantidad de sustrato arroz entero para la reproducción de *Trichoderma* spp.," *Revista Científica*

agrosistemas, vol. 4, n 1, pp. 38-45, 2017

- [10] M. Stefanova, "Aplicación de *Trichoderma* y otros antagonistas", *Fitosanidad*, vol. 10, n 2, pp. 151-163, 2006
- [11] ICA, "ICA", 2022. [En línea]. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/getattachment/Areas/Agricola/Servicios/Fertilizantes-y-Bio-insumos-Agricolas/BDPRODUCTOS-BIOINSUMOS-2.pdf.aspx?lang=es-CO>
- [12] G. Agrios, *Fitopatología*, Quinta ed., Amsterdam: Academic Press, 2005, pp. 26-27, 398-401
- [13] G. Ciba, "Manual de ensayos de campo en protección vegetal", de *Manual de ensayos de campo en protección vegetal*, Suiza, Wener puntener, 1981
- [14] C. Campbell y L. Madden. Introducción a la epidemiología de la enfermedades de las plantas, Nueva York: John Wiley y sons, 1990
- [15] N. Rojas, Efecto de *Trichoderma harzianum* sobre del fruto de tomate bajo microtúnes, Universidad Rafael Landivar, Guatemala de la Asunción, octubre 2014
- [16] S. Trujillo, Efecto de Microorganismos Benéficos como promotores de crecimiento y rendimiento en el cultivo de Lechuga (*Lactuca sativa* L.), en el Valle de Huaral 2016, Universidad de San Pedro, Huaral, Lima, Perú, septiembre 202
- [17] A. Mishra, M. Kumari, S. Pandey, V. Chaudhry, K. Gupta y C. Nautiyal, "Biocatalytic and antimicrobial activities of gold nanoparticles synthesized by *Trichoderma* sp.", *Bioresource Technology*, vol. 166, pp. 235-242, agosto 2014
- [18] G. Rodríguez, Efecto de un biofungicida a base de *Trichoderma harzianum* sobre plantas de lechuga cultivadas en invernadero, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, 2020