

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**INOCULACIÓN DE SEMILLAS DE CEBOLLA CON
MICROORGANISMOS BENÉFICOS: EFECTOS SOBRE
EL CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES Y
SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLÁNTULAS**

por

María Gabriela BARRETO BON

**Trabajo final de grado
presentado como uno de los
requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2026**

Este Trabajo Final de Grado se distribuye bajo licencia
“Creative Commons **Reconocimiento – No Comercial**”.



PÁGINA DE APROBACIÓN

Trabajo final de grado aprobado por:

Director:

Ing. Agr. (Dr.) Guillermo Galván

Tribunal:

Ing. Agr. (Dr.) Guillermo Galván

Ing. Agr. (Dr.) Eduardo Abreo

Ing. Agr. (Dr.) Rafael Vidal

Fecha:

25 de marzo de 2026

Estudiante:

María Gabriela Barreto Bon

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer profundamente a mis padres, Luján y Victoriano. Ellos son mis pilares, quienes siempre han estado para mí apoyándome en todo momento y de todas las formas posibles. Gracias por estar siempre, por confiar en mí y darme la libertad de elegir el camino.

A mi amiga Sofía, que en momentos de crisis siempre tenía la palabra justa, que no me ha dejado caer y me impulsa día a día.

A mi tutor, Guillermo Galván, gracias por confiar en mí para este trabajo, por siempre guiarme, y el compromiso y acompañamiento durante estos años.

Al personal del Centro Regional Sur, Natalia, Quito y Néstor, por su colaboración durante el trabajo de campo, por la buena disposición y los gratos momentos compartidos. A Rosío Acosta por su asistencia en el trabajo de laboratorio, y a Nicolás Núñez por su valiosa ayuda en el análisis estadístico.

Finalmente, a mis amigos y compañeros de facultad, con quienes compartí tantas experiencias a lo largo de la carrera, gracias por su amistad, el compañerismo y por estar presentes en este recorrido.

TABLA DE CONTENIDOS

PÁGINA DE APROBACIÓN	3
AGRADECIMIENTOS	4
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	7
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUCCIÓN	11
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 EL CULTIVO DE CEBOLLA	14
2.2 PROBLEMÁTICA SANITARIA	16
2.2.1 La podredumbre basal causada por <i>Fusarium</i> spp.....	16
2.2.2 La mancha foliar causada por <i>Botrytis squamosa</i>	17
2.3. CONTROL BIOLÓGICO.....	18
2.3.1 Descripción de <i>Clonostachys rhizophaga</i>	20
2.3.2. Descripción de <i>Trichoderma afroharzianum</i>	21
2.3.3 Inoculación con microorganismos.....	22
3. MATERIALES Y METODOS	24
3.1 MATERIAL VEGETAL.....	24
3.1.1 Germinación.....	24
3.1.2 Peso de mil semillas	25
3.2 CEPAS UTILIZADAS	27
3.3 CULTIVOS DUALES	28
3.4 BIOTEST CON FUSARIUM EN POTES DE ARENA	29
3.5 INOCULACIÓN DE SEMILLA Y VIABILIDAD EN EL TIEMPO	31
3.6 EVALUACIÓN DE LA SEMILLA INOCULADA EN ALMACIGO	32
4. RESULTADOS	35
4.1 CULTIVOS DUALES	35
4.2 BIOTEST DE FUSARIUM EN EL LABORATORIO	39
4.3 VIABILIDAD DE LA INOCULACIÓN DE LAS SEMILLAS EN EL TIEMPO	45
5. DISCUSIÓN	56
5.1 COMPORTAMIENTO DE PATÓGENOS Y CONTROLADORES BIOLÓGICOS.....	57
5.2 EFECTO DE <i>Fusarium</i> sp. SOBRE SEMILLAS INOCULADAS CON MICROORGANISMOS BENÉFICOS.....	58

5.3 VIABILIDAD EN EL TIEMPO DE LA INOCULACIÓN DE LA SEMILLA DE CEBOLLA	59
6. CONCLUSIONES	61
7. BIBLIOGRAFÍA	63
8. ANEXOS	69

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla N°

Tabla 1 Resultados de germinación y peso de mil semillas de las variedades utilizadas en el experimento.....	26
Tabla 2 Concentración de esporas de las diferentes cepas usadas para el biotest sobre Fusarium	30
Tabla 3 Fechas de aplicación foliar a los tratamientos correspondientes y concentraciones utilizadas en cada caso	34
Tabla 4 Interacción patógeno vs controlador biológico en cultivos duales sobre medio PDA	37
Tabla 5 Diferencial en controladores biológicos (Trichoderma y Clonostachys) sobre medio PDA.....	37
Tabla 6 Anova de la variable de peso promedio por planta	42
Tabla 7 Efecto de <i>F. oxysporum</i> sobre la variable peso con interacción de variedad y controlador biológico	43
Tabla 8 Resumen de efectos significativos en viabilidad de semilla inoculada - Variable: Área de la colonia.....	47
Tabla 9 Comparación de alturas de plantines de las variedades Pantanoso del Sauce y Vicky	53
Tabla 10 Comparación de peso de hoja con inoculación de semilla	54
Tabla 11 Interacción genética, control biológico y aplicación foliar en peso de bulbillo más raíz en almacigo	54
Tabla 12 Interacción genética, inoculación de las semillas y aplicación foliar en el diámetro de las plantas	55

Figura N°

Figura 1 Esquema del ciclo normal de desarrollo de la cebolla	15
Figura 2 Imágenes ilustrativas del proceso de evaluación de la germinación de las diferentes variedades.....	26
Figura 3 Croquis de la ubicación: parcelas en diferentes tratamientos dentro del experimento de almacigo a campo.....	33
Figura 4 Referencia de los tratamientos realizados en la evaluación en almacigo	34
Figura 5 Cultivos duales de los diferentes patógenos y controladores	36
Figura 6 Áreas de patógeno (A) <i>Botrytis squamosa</i> y (B) <i>Fusarium proliferatum</i> respecto al controlador biológico agregado	38
Figura 7 Imágenes que ilustran el proceso de realización de biotest de <i>Fusarium</i> en condiciones de laboratorio	39
Figura 8 Plantas con o sin agregado de <i>F. proliferatum</i> , variable número y peso de plantas normales.....	40
Figura 9 Efecto de la genética en las variables número y peso de plantas normales	41
Figura 10 plantas con o sin agregado de <i>F. oxysporum</i> , variable número y peso de plantas normales.....	43
Figura 11 Comparación de las dos cepas de <i>Fusarium</i> en número de plantas normales	44
Figura 12 Comparación de las dos cepas de <i>Fusarium</i> en peso promedio de plantas normales	45
Figura 13 Placas de Petri con colonias de controladores biológicos a partir de semillas previamente inoculadas	46

Figura 14 Comparación de áreas de crecimiento y tasa de inoculación en las diferentes variedades	48
Figura 15 Viabilidad en el tiempo de los controladores biológicos, variable: área y tasa de inoculación	49
Figura 16 Viabilidad de <i>T. afroharzianum</i> y <i>C. rizhophaga</i> según temperatura de la conservación post inoculación.....	50
Figura 17 Viabilidad de <i>T. afroharzianum</i> y <i>C. rizhophaga</i> con y sin el agregado de aditivos.....	51
Figura 18 Almacigo instalado en el Centro Regional Sur (CRS), en Progreso, Canelones.....	52

RESUMEN

En Uruguay, el cultivo de cebolla es de gran importancia económica, pero aún no se dispone de tantas herramientas investigadas para un control integrado de enfermedades como ocurre en las hortalizas protegidas. Los suelos del país se caracterizan por ser fértiles y presentar una gran diversidad de microorganismos; sin embargo, el uso intensivo de los sistemas productivos hortícolas provoca su degradación progresiva, transformándolos en ambientes favorables para el desarrollo de distintos patógenos. La producción nacional se basa principalmente en cultivares desarrollados por INIA y la Facultad de Agronomía, y la mayor parte de la semilla comercializada es de origen nacional y certificada. En este contexto, ofrecer semilla inoculada con microorganismos benéficos permitiría sustituir el uso de curasemillas químicos, aprovechando mecanismos biológicos para contribuir a un manejo integrado más sostenible.

La inoculación de semillas con microorganismos benéficos constituye una herramienta con potencial para optimizar recursos y promover un mejor crecimiento inicial; sin embargo, en horticultura su aplicación es poco frecuente. En este trabajo se evaluó el efecto de la inoculación de semillas de cebolla con *Trichoderma afroharzianum* cepa TR48 y con *Clonostachys rhizophaga* cepa P43, aplicadas por separado. Se utilizaron los cultivares Vicky F1 (Italia) y Pantanoso del Sauce CRS (Uruguay). Los microorganismos fueron cultivados en placas con medio PDA, de las cuales se cosecharon esporas que luego fueron encapsuladas con aditivos para favorecer su viabilidad. Se evaluó la viabilidad con y sin aditivos a los 0, 7 y 14 días post inoculación, dos métodos de conservación: temperatura ambiente y refrigeración a 4–5 °C.

En cultivos duales, la cepa *Clonostachys* P43 mostró efecto significativo en el control de *Botrytis* (43,3 cm² de área del patógeno en presencia de P43 frente a 55,9 cm² en el control), aunque no evidenció efecto sobre *Fusarium*. Por su parte, *Trichoderma* TR48 presentó mayor capacidad de control sobre ambos patógenos (20,9 y 25,1 cm² de área de *Botrytis* y *Fusarium*, respectivamente, frente a 55,9 y 35,9 cm² en los controles), asociado a su mayor tasa de crecimiento in vitro. En un biotest en arena infectada con *Fusarium*, ambas cepas generaron efecto positivo en el peso de las plántulas con la cepa UR01, de baja virulencia, pero no fueron efectivas frente a la cepa más virulenta NL93816 con la metodología empleada. El peso medio de plántulas con NL93816 fue de 0,030 g, mientras que con inoculación se aproximó a 0,076 g por plántula.

Ambas cepas mantuvieron su viabilidad en PDA hasta los 7 días posteriores a la inoculación (17 cm² para TR48 y 11 cm² para P43), disminuyendo a los 14 días (12,5 cm² y 8 cm², respectivamente) en la variedad Vicky; comportamiento similar se observó en Pantanoso y bajo ambas temperaturas de conservación. El uso de aditivos provocó altos niveles de contaminación in vitro, lo que indica necesidad de ajustes metodológicos. En campo, a los 60 y 90 días desde la siembra, las semillas inoculadas produjeron plantas con mayor peso y área foliar, aunque con menor diámetro de tallo. La incidencia natural de enfermedades fue baja y sin diferencias significativas. El uso de microorganismos benéficos se presenta como alternativa para fortalecer la sanidad y sostenibilidad del cultivo.

Palabras clave: inoculación de semilla, control biológico, *Trichoderma*, *Clonostachys*

ABSTRACT

In Uruguay, onion production is of great economic importance; however, there are still fewer research-based tools available for integrated disease management compared to those developed for protected horticultural crops. The country's soils are characterized by high fertility and a broad diversity of microorganisms. Nevertheless, the intensive use of horticultural production systems leads to their progressive degradation, turning them into environments favorable for the development of various pathogens. National production is mainly based on cultivars developed by INIA and the Facultad de Agronomía, and most of the commercialized seed is nationally produced and certified. In this context, offering seed inoculated with beneficial microorganisms would allow the replacement of chemical seed treatments, taking advantage of biological mechanisms to contribute to a more sustainable integrated management approach.

Seed inoculation with beneficial microorganisms represents a tool with the potential to optimize resource use and promote improved early plant growth; however, its application in horticulture remains uncommon. In this study, the effect of onion seed inoculation with *Trichoderma afroharzianum* strain TR48 and *Clonostachys rhizophaga* strain P43, applied separately, was evaluated. The cultivars Vicky F1 (Italy) and Pantanoso del Sauce CRS (Uruguay) were used. The microorganisms were grown on PDA medium plates, from which spores were harvested and subsequently encapsulated with additives to enhance their viability. Viability was assessed with and without additives at 0, 7, and 14 days after inoculation under two storage conditions: room temperature and refrigeration at 4–5 °C.

In dual culture assays, *Clonostachys* P43 showed a significant effect in controlling *Botrytis* (43.3 cm² of pathogen area in the presence of P43 compared to 55.9 cm² in the control), although it did not show an effect against *Fusarium*. In contrast, *Trichoderma* TR48 exhibited greater control capacity against both pathogens (20.9 and 25.1 cm² of *Botrytis* and *Fusarium* area, respectively, compared to 55.9 and 35.9 cm² in the controls), which was associated with its higher in vitro growth rate. In a bioassay conducted in sand artificially infested with *Fusarium*, both strains had a positive effect on seedling weight when using the low-virulence strain UR01; however, they were not effective against the more virulent strain NL93816 under the methodology applied. The average seedling weight in the presence of NL93816 was 0.030 g, whereas with inoculation it reached approximately 0.076 g per seedling.

Both strains maintained their viability on PDA up to 7 days after inoculation (17 cm² for TR48 and 11 cm² for P43), decreasing at 14 days (12.5 cm² and 8 cm², respectively) in the Vicky cultivar; a similar pattern was observed in Pantanoso and under both storage temperatures. The use of additives resulted in high levels of in vitro contamination, indicating the need for methodological adjustments. Under field conditions, at 60 and 90 days after sowing, inoculated seeds produced plants with greater weight and leaf area, although with smaller stem diameter. Natural disease incidence was low and no significant differences were detected. The use of beneficial microorganisms represents a promising alternative to strengthen crop health and sustainability.

Keywords: seed inoculation, biological control, *Trichoderma*, *Clonostachys*

1. INTRODUCCIÓN

La cebolla (*Allium cepa* L.) es una de las principales hortalizas producidas en Uruguay (Oficina de Estadísticas Agropecuarias [DIEA], 2024), donde su almacenamiento poscosecha se realiza durante un periodo de tiempo extenso, lo que involucra obtener una buena cosecha para lograr las menores pérdidas en poscosecha y llegar a los meses necesarios de abastecimiento del mercado (Campelo & Arboleya, 2005).

La cebolla es una de las hortalizas cultivadas de consumo más antiguas, donde los egipcios, griegos y romanos fueron quienes seleccionaron bulbos de mayor tamaño, con mejores características de conservación logrando así por este método obtener las variedades modernas, que luego se perfeccionaron para la obtención de las variedades actuales (Dogliotti et al., 2011). Donde la especie *Allium cepa* y sus parientes silvestres, se encuentren principalmente en la región irano-turca (Harding et al., 2026). En Uruguay el consumo de cebolla es de 8,2 kg/persona/año, ya que es una hortaliza de fácil incorporación en las diferentes comidas y tiene beneficios para la salud como es el aporte de vitamina C y zinc, además de un poder diurético y antioxidante (Unidad Agroalimentaria Metropolitana [UAM], 2025).

A nivel nacional institutos como Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) junto a Facultad de Agronomía (FAGRO-UDELAR) han desarrollado métodos de selección y mejoramiento para investigar y desarrollar variedades de gran aceptación local como “Pantanosos del Sauce CRS”, “Canarita” y “Naque”, las cuales tienen diferentes características deseables para la producción y el consumo, como pueden ser resistencia a enfermedades foliares, ciclos de producción complementarios y prolongada conservación poscosecha (Vicente et al., 2010).

El cultivo de cebolla tiene como características fisiológicas un lento crecimiento, donde además tiene un bajo poder de competencia ya que la canopia presenta hojas cilíndricas dispuestas verticalmente y junto a esto un sistema radicular superficial (Dogliotti et al., 2011). Al ser un cultivo de extenso periodo de tiempo, aproximadamente nueve meses desde la siembra a la cosecha (Dogliotti et al., 2011), se deben tener ciertas precauciones ya que las condiciones ambientales son variables o cambiantes, lo que implica momentos donde se ven favorecidas en diferentes etapas del cultivo ciertas enfermedades y plagas (Agrios, 2007; Maeso et al., 2012). Dentro de esas enfermedades podemos encontrar a *Fusarium oxysporum* afectando a las raíces y el bulbo (Cramer, 2000; Galván et al., 2008), y *Botrytis squamosa* afectando a las hojas

(Galván et al., 2004). Como se indica anteriormente el abastecimiento al mercado interno es extenso, donde obtener un buen rendimiento es importante, y estas enfermedades afectan a dos componentes del rendimiento como lo es cantidad de plantas y el peso de bulbo al momento de la cosecha.

Actualmente se toma más conciencia de la sostenibilidad ambiental donde es necesario incorporar cambios en el manejo de los cultivos. Dentro de estos cambios encontramos la implementación del control biológico de enfermedades con microorganismos, donde se busca sobrepoblar el ambiente con microorganismos de interés para que se genere control sobre las enfermedades que afectan al cultivo a trabajar. Algunas investigaciones han encontrado, que los microorganismos pueden desencadenar mecanismos que promueven el crecimiento, mejorando así la salud del cultivo y la resistencia a estrés tanto biótico como abiótico (Abdullah et al., 2021; Harman, 2000; Infante et al., 2009).

En las últimas décadas la semilla de origen nacional ha tomado mucha relevancia, ya que logra el abastecimiento principal de las 1187 hectáreas de producción (DIEA, 2024). Junto a esto, la selección local de variedades ha desarrollado cultivares caracterizados por su buena adaptabilidad a las condiciones ambientales locales. La selección de las diferentes variedades se ha realizado para lograr resistencia a ciertas enfermedades de gran importancia por sus consecuencias como lo son las causadas por *Peronospora destructor* y *Fusarium oxysporum* (Cramer, 2000; Galván et al., 2008). Estas investigaciones (Cramer, 2000; Galván et al., 2008), fueron usadas para realizar a nivel nacional, el desarrollo de las variedades más utilizadas en la última década como lo es Pantanoso del Sauce CRS que presenta mayor resistencia a *Botrytis* en la fase de almacigo (Vicente et al., 2010), en comparación con muchas variedades introducidas. La mayoría de la semilla utilizada de cebolla es producida en Uruguay, tanto semilla certificada producida por semilleros regulados por Instituto Nacional de Semillas (INASE), como variedades criollas de cebolla mantenidas en sus predios para uso propio (Peluffo et al., 2016), donde se ha buscado formas de agregarle valor a la semilla. Así, se genera una oportunidad para la inoculación con microorganismos benéficos, y desarrollar nuevas tecnologías en el manejo.

Por esta razón este trabajo tuvo por objetivo general ajustar la metodología de inoculación de semilla de cebolla con microorganismos benéficos y evaluar su efecto sobre el crecimiento y el control de enfermedades del cultivo.

Los objetivos específicos fueron:

- (a) Ajustar la metodología de inoculación de semilla de cebolla con una cepa de *Clonostachys rhizophaga*, y con una cepa de *Trichoderma afroharzianum*, y conocer la viabilidad en el tiempo de los microorganismos inoculados sobre las semillas.
- (b) Evaluar el efecto de la inoculación con estos microorganismos benéficos sobre el control de *Fusarium sp.* durante la germinación.
- (c) Evaluar el efecto de la inoculación con estos microorganismos benéficos sobre el control de *Botrytis squamosa* al estado de plántula en condiciones de almácigo (a campo).
- (d) Evaluar el efecto de la inoculación con microorganismos benéficos sobre el crecimiento del cultivo durante los primeros 90 días en almácigo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 EL CULTIVO DE CEBOLLA

La cebolla (*Allium cepa* L.) es una de las principales hortalizas que se consumen a nivel mundial. Los principales productores de esta son China e India con un volumen de producción de 40 millones de toneladas aproximadamente, siendo Asia dominante en el área cultivada, con un 60% del área de producción de cebolla (Dirección General de Análisis Productivo [DAPRO], 2020; UAM, 2025). La producción total a nivel mundial es de 97 millones de toneladas, con una producción promedio de 19 toneladas/año/ha entre 2014-2018 (DAPRO, 2020). Pero a pesar de la gran producción a nivel mundial, solo el 8% se comercializa en el exterior, donde los principales países exportadores son Holanda y China (DAPRO, 2020).

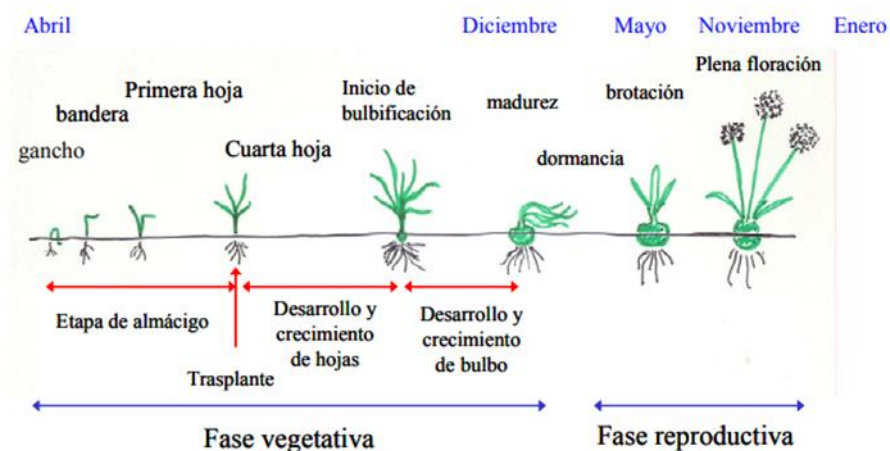
En Uruguay es una de las cuatro hortalizas más importantes, según la UAM (2025). La producción anual de 23.908 toneladas según el anuario 2024 (DIEA, 2024), en su mayoría se comercializa a nivel nacional para el consumo local en fresco, pero en ciertas circunstancias se han realizado exportaciones. Las principales zonas de producción son el litoral norte y el sur, donde esta última representa alrededor del 60% de la producción total (DIEA, 2024).

El cultivo de cebolla en Uruguay ocupa 1187 hectáreas sembradas las cuales requiere de 4000 kg de semilla al año para lograr el abastecimiento (DIEA, 2024; Peluffo et al., 2016). La mayoría de esta semilla corresponde a semilla de cultivares nacionales de INIA y del Centro Regional Sur (CRS) de la Facultad de Agronomía, certificada por INASE (Peluffo et al., 2016). INASE certifica la semilla de cebolla por estándares específicos, estos son que los semilleros estén distanciados entre si al menos 1500 metros, la pureza física al menos de 98%, y la germinación por lo menos de 75%, entre otros (Instituto Nacional de Semillas [INASE], 2013). Estas características, aseguran una buena calidad de semilla, dado confiabilidad y seguridad en la compra.

El cultivo de cebolla es bianual en su ciclo biológico, es decir que en un primer año tiene comportamiento vegetativo y al siguiente año comportamiento reproductivo con la floración y producción de semillas. Dentro de las etapas de producción en el primer año tenemos la siembra (en almacigo o por método de siembra directa), el trasplante en el caso de haber realizado almacigo y la bulbificación; estas son etapas en las que por medio del manejo se puede incidir para mejorar el rendimiento, y posterior a la fase de cultivo se realiza la conservación poscosecha, que se extiende hasta el segundo año (Figura 1).

Figura 1

Esquema del ciclo normal de desarrollo de la cebolla



Nota. Extraído de Dogliotti et al. (2011).

La etapa de almácigo es de gran importancia, determina uno de los componentes del costo del cultivo y del rendimiento final. El cuidado procura obtener buen tamaño de plantin (altura y diámetro), presencia de hojas fotosintéticas activas, raíces sanas para que a la hora de realizar el trasplante se logre obtener las menores pérdidas de plantas asegurándonos obtener una sobrevivencia adecuada. Las siembras de almácigo se realizan en el sur desde marzo a abril hasta mayo a junio dependiendo del ciclo o tipo del cultivar, aspecto que se detallará más adelante. Los requerimientos de semilla para las siembras rondan 2 a 2,5 kg/ha, ya que sobre el cantero se distribuyen en líneas a una densidad aproximada de 4 g/m² (Arboleya, 2005). Esta etapa debe localizarse en una zona cercana para poder realizar control de germinación, enfermedades, riego y hormigas, además tener en cuenta que sean suelos nuevos o que vengan de un proceso de solarización para favorecer el crecimiento de las plántulas escapando de la aparición de malezas (Arboleya, 2005).

Las posteriores etapas del cultivo de cebolla son el trasplante, que se da entre los meses de junio a julio dependiendo del ciclo del cultivar elegido, Arboleya (2005) indica que un buen plantin, es aquel que tenga de 3 a 4 hojas, 25 cm de altura y el grosor similar al diámetro de un lápiz, para que este tenga un buen comienzo en la siguiente etapa. Esto es una consideración sobre variables que se evaluarán en este trabajo.

Los cultivares de cebolla se clasifican según su fotoperíodo crítico, lo que hace referencia a los requerimientos de luz para que se dé el inicio de la bulbificación. Según la respuesta al fotoperíodo, los cultivares de cebolla puede ser de día corto (8 a 10 horas

de luz), día medio o día largo (12 a 14 horas de luz). La etapa de bulbificación se da cuando las condiciones de fotoperiodo (horas de luz) en combinación con la temperatura son las óptimas para este proceso, lo cual determina la velocidad de formación de bulbo (Arboleya, 2005).

La elección del cultivar depende del método de conservación poscosecha o de venta en fresco, inmediata a la cosecha. Las características que se buscan son el buen cerrado de cuello, que impide la entrada de microorganismos y reduce las pérdidas de humedad, lo que mejora la calidad del producto. Generalmente los cultivares de día intermedio y de día largo son más aptas para conservación por sus características, por ejemplo, cerrado de cuello (Campelo & Arboleya, 2005; Vieta Delgado, 2020).

2.2 PROBLEMÁTICA SANITARIA

En el cultivo de cebolla existe una complejidad sanitaria en todo el ciclo de cultivo, en la etapa de almácigo el cultivo es de gran susceptibilidad a enfermedades, debido a que se dan condiciones óptimas para su presencia, por la falta de una ventilación adecuada y la alta densidad de plantas en el cantero. Estas enfermedades pueden afectar a diferentes partes del plantín, por ejemplo, podrición basal y afectación de raíces causada por *Fusarium oxysporum* y manchas foliares causadas por *Botrytis squamosa* (Galeano et al., 2014). Estas enfermedades condicionan el tamaño y sanidad del plantín, que a la hora del trasplante llega con menor calidad, lo que puede afectar el rendimiento debido al menor tamaño de plantas y a una mayor pérdida de plantas postrasplante. Esto se debe a que, a menor cantidad de hojas y una baja cantidad de raíces, los plantines no llegan a un tamaño óptimo a la etapa de trasplante, lo que provoca una menor fotosíntesis, menor asimilados disponibles para la formación de bulbo en el periodo, lo que condiciona tamaño de bulbo, peso de bulbo y conservación poscosecha.

2.2.1 La podredumbre basal causada por *Fusarium* spp.

Fusarium oxysporum f.sp. *cepae* es el agente patogénico principal encargado de producir podredumbres de raíz y de la placa basal del tallo donde su forma de transmisión es por el suelo y siendo un patógeno con una amplia gama de cultivos hospederos, entre ellos la cebolla. Según Dean et al. (2012) al tener un amplio rango de hospederos, *Fusarium oxysporum* tiene un importante impacto económico, y se lo ha considerado como el quinto hongo fitopatógeno más importante.

En este caso, *Fusarium oxysporum f.sp. cepae* causa podredumbre basal, que puede afectar principalmente en el estado de plántula, y en la podredumbre del bulbo previo a la cosecha y en la fase poscosecha. También se han determinado otras especies causantes de la podredumbre basal, como *Fusarium proliferatum* usadas en este trabajo (Galván et al., 2008). Los síntomas van desde un oscurecimiento de la placa del tallo, amarillamiento de hojas viejas hasta pudrición del bulbo (Cramer, 2000). *Fusarium proliferatum* causa también podredumbres secas en almacenamiento. Las colonias son de color blanco a púrpura y presentan microconidios, y tiene como característica que no forma clamidosporas, donde su micelio es la estructura de resistencia (Guédez et al., 2012). Mientras que *Fusarium oxysporum* si forma clamidosporas como estructuras de resistencia que permanecen en el suelo y provoca que el control sea de más dificultoso.

En cultivos como cannabis, Punja (2020) evaluó el crecimiento de las colonias de *F. proliferatum* y *F. oxysporum* en medio de cultivo PDA a siete temperaturas diferentes, donde pudo observar que el crecimiento óptimo se daba a 25°C, correspondiendo a temperaturas similares en ambas especies, pero se comprobó que *F. oxysporum* tuvo un crecimiento más acelerado que *F. proliferatum*.

La podredumbre basal causada por *Fusarium* sp. puede atacar en la emergencia de la plántula, luego en estado vegetativo las cebollas se vuelven más resistentes, y en la etapa adulta (bulbificación) se vuelven susceptibles nuevamente (Cramer, 2000; Galeano et al., 2014; Schwartz & Mohan, 2008).

2.2.2 La mancha foliar causada por *Botrytis squamosa*

Botrytis squamosa es el patógeno responsable de causar manchas foliares de coloración blanca con halo clorótico, que causan reducción del área fotosintética activa, y consecuentemente del rendimiento y la conservación poscosecha (Maeso et al., 2012).

Taxonómicamente, *Botrytis squamosa* pertenece al Reino Fungi, División Ascomycota, Clase Leotiomycetes, Orden Helotiales, Familia Sclerotiniaceae, Género *Botrytis* spp (Schwartz & Mohan, 2008). Las condiciones óptimas para la infección son temperaturas en torno a 15- 20 °C, humedad relativa superior a 90 %, cultivos de alta densidad y periodos de hoja mojada mayores a 10 horas (Carisse et al., 2012; Maeso et al., 2012). Las esporas permanecen en el suelo en forma de esclerotos de color negro, para luego cuando se den las condiciones óptimas se desarrollen los conidios que son

la forma de dispersión que se dan por viento o agua libre (Agrios, 2007). La aparición y severidad de los síntomas está fuertemente condicionada por las variables ambientales, por lo que las decisiones de manejo suelen depender de pronósticos climáticos y, en muchos casos, derivan en aplicaciones preventivas de fúngicas para evitar la aparición de síntomas aun sin estar presente el patógeno.

La estrategia de manejo se basa en mejoramientos genéticos como lo es la elección de cultivares con resistencia a la enfermedad, control químico por medio de aplicaciones de fungicidas de manera preventiva y/o curativas y control biológico por uso de hongos antagonistas como lo es *Trichoderma* sp. (Maeso et al., 2012). Asimismo, se ha avanzado en el desarrollo de modelos epidemiológicos que permiten predecir el riesgo de infección en función de la temperatura, la humedad relativa y la duración de la hoja mojada, contribuyendo a optimizar la frecuencia y oportunidad de las aplicaciones fungicidas (Carisse et al., 2012).

2.3. CONTROL BIOLÓGICO

La producción hortícola durante años ha utilizado principalmente el control químico para plagas y enfermedades como método de control (Agrios, 2007), pero en las últimas décadas el bienestar poblacional, los impactos sobre el ambiente y la calidad e inocuidad alimenticia han tomado relevancia y se cuestionan los métodos de control de enfermedades y plagas basados solamente en productos químicos de síntesis (Guédez et al., 2009). Por esta razón el control con herramientas biológicas viene tomando cada vez más relevancia, tanto para la salud del productor, como para la del consumidor ya que este prefiere alimentos más inocuos (Abdullah et al., 2021; de Lima Andreatta et al., 2025). Además, se ha tomado conciencia de la contaminación del ambiente causada por estos productos químicos, que también ha generado aumento en la propia problemática de plagas y enfermedades, por el desarrollo de resistencia en la plaga objetivo, y los efectos sobre especies no blanco, lo que incluye la desaparición de controladores biológicos (Guédez et al., 2009).

Actualmente el desarrollo de agentes de control biológico despierta el interés de empresas y organizaciones de investigación, donde la participación de los hongos tiene una gran relevancia para el control de plagas y enfermedades (de Lima Andreatta et al., 2025; Williams et al., 2025). En el presente trabajo se utilizaron dos especies de hongos controladores (*Clonostachys rhizophaga* y *Trichoderma afroharzianum*) frente a patógenos fúngicos del cultivo de cebolla.

Unas de las estrategias implementadas en la utilización de hongos benéficos es el método inundativo, que consiste en la introducción de microorganismos antagonistas al ecosistema que logren controlar un patógeno o plaga sobrecargando el ambiente con esporas del hongo de interés (Harman, 2000; Rubio & Fereres, 2005). En cultivos protegidos se humedece el suelo y con aspersores se distribuyen las esporas por todo el sistema, y luego de realizado el trasplante o siembra se vuelven a hacer aplicaciones de esporas sobre las plantas para que empiece a realizar el control sobre el patógeno (Adán, 2013). En cultivos a campo se busca que se den condiciones ambientales óptimas para el establecimiento del biocontrolador, como la presencia de buena humedad. Se realiza el mismo procedimiento que en cultivos protegidos, pero se toman consideraciones diferentes como una mayor sobrecarga de esporas ya que muchas se pueden perder por no estar en contacto con las condiciones óptimas de sobrevivencia, las cuales dependen de cada hongo a trabajar. Otro método es la inoculación de semillas, donde se remojan las semillas con una suspensión de esporas que permite que, desde la germinación de las plántulas, tengan consigo las esporas de los hongos benéficos provocando una protección desde el primer momento, y eventualmente realizar posteriores inoculaciones complementarias al ambiente del cultivo.

Los métodos de acción de los diferentes hongos controladores pueden ser variados (Rubio & Fereres, 2005), donde encontramos; (1) colonización e inundación, donde se necesita una determinada cantidad de esporas del biocontrolador para generar un control, y que este biocontrolador entre en contacto tanto con el patógeno como con las plantas mismas del cultivo. (2) Competencia, se da cuando el biocontrolador y el patógeno compiten por los mismos recursos, sea nutrientes, espacio, etc. Esto impide la colonización del que tiene menores recursos o menor velocidad de crecimiento, para captar lo necesario que generalmente son los hongos patógenos. (3) Antibiosis, se da por la lisis celular, que implica una ruptura de enzimas o metabolitos generando compuestos antibióticos. (4) Fungistasis, significa que los biocontroladores generan condiciones en el microambiente para que las esporas del patógeno no germinen. (5) micoparasitismo, se da por la utilización del patógeno como fuente de alimento siendo este el método de acción de hongos como por ejemplo en de *Trichoderma spp.*; (6) Inducción de resistencia sistémica, se da cuando al tomar contacto con el controlador biológico, el cultivo desencadena mecanismos de resistencia como puede ser un aumento en deposición de lignina en las paredes celulares, producción de ácidos, enzimas etc. (Rubio & Fereres, 2005).

2.3.1 Descripción de *Clonostachys rhizophaga*

Clonostachys rosea f. sp. *rosea* se trata de un hongo ascomycete micoparásito. Está clasificado taxonómicamente de la siguiente manera (Schroers et al., 1999): Reino Fungí, División Ascomycete, Clase Sordariomycetes, Orden Hypocreales, Familia Bionectriaceae, Género *Clonostachys*, especie *Clonostachys rhizophaga* (Schroers et al., 1999).

El aislamiento utilizado para este trabajo fue *Clonostachys rhizophaga* P43, aislado de plantas de frutilla en Paysandú, por el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía (Universidad de la República). Estas especies pueden crecer en restos vegetales senescentes, materia orgánica o sobre micelio activo de *Botrytis cinerea*.

Clonostachys rosea es una especie cercana a *C. rhizophaga* que ha sido más ampliamente estudiada. Presenta conidióforos primarios verticiliados y conidióforos secundarios peniciliados. Su micelio desarrolla un color salmón característico en colonias afelpadas homogéneas. Aunque se comporta como un hongo saprofito, tiene mecanismos de micoparasitismo lo que le permite competir de una manera efectiva en ambientes productivos (Fatema et al., 2018; Sutton et al., 1997).

Este hongo biocontrolador tiene una distribución cosmopolita, en regiones tropicales y templadas (Schroers et al., 1999). La temperatura óptima de crecimiento es de 25°C, pero ninguna cepa registrada supera los 28°C y presenta adaptación a un amplio rango de pH (Fatema et al., 2018; Sutton et al., 1997). La humedad es un factor importante para su instalación, y que debe superar el 90%. En medio de cultivo PDA (Potato Dextrosa Agar), el crecimiento de *Clonostachys* suele ser lento comparado con otros hongos como por ejemplo *Trichoderma* spp (Harman, 2000; Infante et al., 2009).

De acuerdo a la información recabada, *C. rosea* es capaz de catalizar la toxina zearalenona, producida por *Fusarium* sp. transformándola en compuestos de menor toxicidad, lo que evidencia una importante actividad de biocontrol (Fatema et al., 2018). Este efecto se debe principalmente a la producción de compuestos antifúngicos, donde sobre *Botrytis cinerea* o *Fusarium graminearum*, se induce la vía de formación de Policetido Sintasa (PKS), que son enzimas encargadas de sintetizar policetidos con actividad antifúngica (Fatema et al., 2018).

2.3.2. Descripción de *Trichoderma afroharzianum*

El género *Trichoderma* corresponde a hongos cosmopolitas, con alta capacidad reproductiva y amplia diversidad metabólica (Lopes et al., 2012). La clasificación taxonómica es: Reino: Fungi, División: Ascomycota, Subdivisión: Pezizomycotina, Clase: Sordariomycetes, Orden: Hypocreales, Familia Hypocraceae, Género: Hypocrea, Especie: *Trichoderma harzianum* Persoon, 1969.

Principalmente se han estudiado como controladores de hongos de suelo. Se ha observado que compiten por espacio, por nutrientes y que inhiben el crecimiento de patógenos por antibiosis, por la producción de metabolitos secundarios liberados a su ambiente circundante (Reino et al., 2008; Vinale et al., 2014). También actúan degradando la pared celular de otros hongos por acción de enzimas hidrolíticas como quitinasas y celulasas (Abdullah et al., 2021; Infante et al., 2009).

La reproducción de *Trichoderma spp.* es asexual mediante la producción de conidios con una coloración verde oscuro generalmente (Chaverri et al., 2015), son de rápido desarrollo, y poseen la capacidad de producir clamidosporas en sustratos naturales para mantenerse en condiciones adversas, que son de gran importancia para la sobrevivencia (Harman, 2000). La temperatura óptima de desarrollo ronda entre los 20 a 28°C y la humedad relativa ronda entre 92 a 95% (Abdullah et al., 2021). Además, las especies de *Trichoderma* son hongos saprofitos que pueden sobrevivir en suelos con grandes cantidades de materia orgánica y también en condiciones de anaerobiosis facultativa, lo que les permite tener plasticidad ecológica (Infante et al., 2009).

El género *Trichoderma* presenta una combinación de métodos de control en el que se encuentra el micoparasitismo, competencia y antibiosis (Rubio & Ferreres, 2005). Se observa que *Trichoderma* tiene un efecto importante en el control de patógenos, principalmente actuando por inhibición. Y también puede romper estructuras de resistencia como los esclerotos perteneciente a *Sclerotium rolfsii* (Mello et al., 2007).

González Barrios (2019) evaluó una colección de cepas de *Trichoderma* en el control de *Sclerotium rolfsii* en morrón (*Capsicum annuum* L.). En cultivos duales encontró efecto inhibitorio en todas las cepas estudiadas. En tanto, en un experimento en condiciones controladas con plantas en macetas, las tres cepas de *Trichoderma* evaluadas mostraron control parcial de la marchitez causada por infecciones de los tallos del morrón. La identificación molecular de las tres cepas utilizadas, en base a las secuencias de la región ribosómica ITS1-4 y del gen de elongación EF1 alfa, mostró muy alta coincidencia (99%) con las especies *Trichoderma pseudoharzianum* y

Trichoderma afroharzianum (González Barrios, 2019). Estas especies de *Trichoderma* se encuentran descritas en el trabajo taxonómico de Chaverri et al. (2015).

También se describe el control contra *Botrytis cinerea* y *Rhizoctonia solani* por cepas silvestres y mutantes de *Trichoderma arundinaceum*. Se ha descrito la presencia de péptidos con actividad antibiótica (Reino et al., 2008; Varela Pardo, 2023; Vinale et al., 2014).

Además, Candellero et al. (2015) reportan que hay cepas de México de *Trichoderma spp.* que presentan mecanismos que promueven el crecimiento vegetal. Esto es atribuido a la producción de ácido indolacético, que actúa como regulador de crecimiento, y de ácidos orgánicos, que retienen cationes y acidifican la rizosfera, lo cual solubiliza nutrientes para su absorción (Harman, 2000; Valencia et al., 2005).

2.3.3 Inoculación con microorganismos

Los métodos de inoculación biológica de las semillas son usados para la incorporación en abundancia de controladores biológicos, y para poder obtener una población acorde que logre llegar a un control efectivo de los diferentes patógenos del cultivo presentes.

La inoculación de semillas es practicada para promover el crecimiento en cultivos como gramíneas (maíz), y leguminosas (soja entre otras). Lo que se propone es generar una simbiosis, por ejemplo, con los rizobios y las leguminosas (Lodeiro, 2005), o para poder realizar un uso efectivo de los nutrientes presentes en el suelo.

La manera más común de inocular es mezclar la semilla con el inoculante un poco antes de la siembra, donde cada semilla lleva una dosis del inoculante distribuido lo más homogéneamente posible. Esta tarea dentro de cultivos extensivos no genera un gran trabajo extra. En los cultivos intensivos como la horticultura, el tamaño de semilla es mucho más pequeño en la mayoría de las especies y la cantidad de semilla a tratar en kilogramos es mucho menor comparado con cultivos como soja.

En horticultura se ha probado la inoculación con bacterias principalmente, en cultivos como lechuga, espinaca, tomate, y otros, con el objetivo de mejorar el estado de las plántulas, donde se logra mejores rendimientos por la mejor utilización de los nutrientes del suelo (Garbi et al., 2016; Gordillo-Delgado et al., 2019). Pero se vio además un efecto indirecto en las plantas, generando un control en enfermedades fúngicas, donde se observó una producción de metabolitos antibióticos posterior a la

inoculación, y también hubo un efecto de competencia por espacio en la rizosfera del suelo (Ongena et al., 2005).

Las técnicas usadas pueden ser la inoculación por medio del recubrimiento o peleteado, donde la semilla se recubre del organismo de interés junto a adherentes. La inoculación se realiza por método de inmersión, se sumergen las semillas en el líquido inoculante (suspensión de esporas), que puede o no tener aditivos para mejorar la fijación a la semilla; y, por último, la inoculación puede realizarse mediante un polvo seco, donde se mezcla la semilla y ese polvo justo antes de la siembra (Olivera, 2023).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL

Para este trabajo se utilizaron dos variedades de cebolla, “Pantanoso del sauce CRS” y “Vicky”. Pantanoso del Sauce es de origen nacional, desarrollada por Facultad de Agronomía y seleccionada en el Centro Regional Sur (CRS). El proceso de producción de semillas se encuentra certificado por INASE. El cultivar presenta un ciclo de crecimiento de día intermedio. El año de producción de la semilla utilizada fue 2023, con una germinación del 78%.

La variedad “Vicky” es un material de origen extranjero, desarrollado por la empresa ISI Sementi S.p.A., firma italiana dedicada al mejoramiento y comercialización de semillas hortícolas. Se selecciono como control susceptible, ya que la adaptación local de Pantanoso del Sauce involucra la resistencia parcial a diferentes enfermedades. La variedad “Vicky” presenta un ciclo de crecimiento de día largo, tipo de planta vigorosa, de alto rendimiento y buen sistema radicular. Esta semilla también fue testeada por INASE en el año 2021, con una germinación de 77% según información del envase con etiqueta de certificación correspondiente.

Para los dos lotes de semilla se realizaron pruebas de germinación y peso de mil semillas.

3.1.1 Germinación

Se emplearon cuatro repeticiones, colocando la semilla en contenedores plasticos herméticos sobre papel humedecido. En total, se colocaron 100 semillas por repetición, distribuidas equitativamente entre los dos contenedores plásticos (50 semillas por contenedor), por lo que en total se usaron ocho contenedores plásticos por cada variedad para el experimento. En el fondo de cada contenedor se colocó un papel absorbente embebido en agua para garantizar una adecuada humedad para la germinación.

Los contenedores plasticos se colocaron en una estufa de incubación ajustada para mantener una temperatura constante de 20°C / 25°C (noche/día), con el fin de crear un entorno óptimo para la germinación, siguiendo las normas International Seed Testing Association (ISTA, 2010).

Se realizaron dos evaluaciones, una a los 7 días y otra a los 14 días posteriores al inicio del experimento (ISTA, 2010). En cada evaluación, se realizó un conteo de las

plantas germinadas, clasificándolas en dos categorías; (1) plantas normales son aquellas que germinaron y desarrollaron una estructura radicular y parte aérea adecuadas; y (2) plantas anormales que son aquellas semillas germinadas que presentaron anomalías en su desarrollo, tales como crecimiento deficiente o malformaciones (Don, 2009).

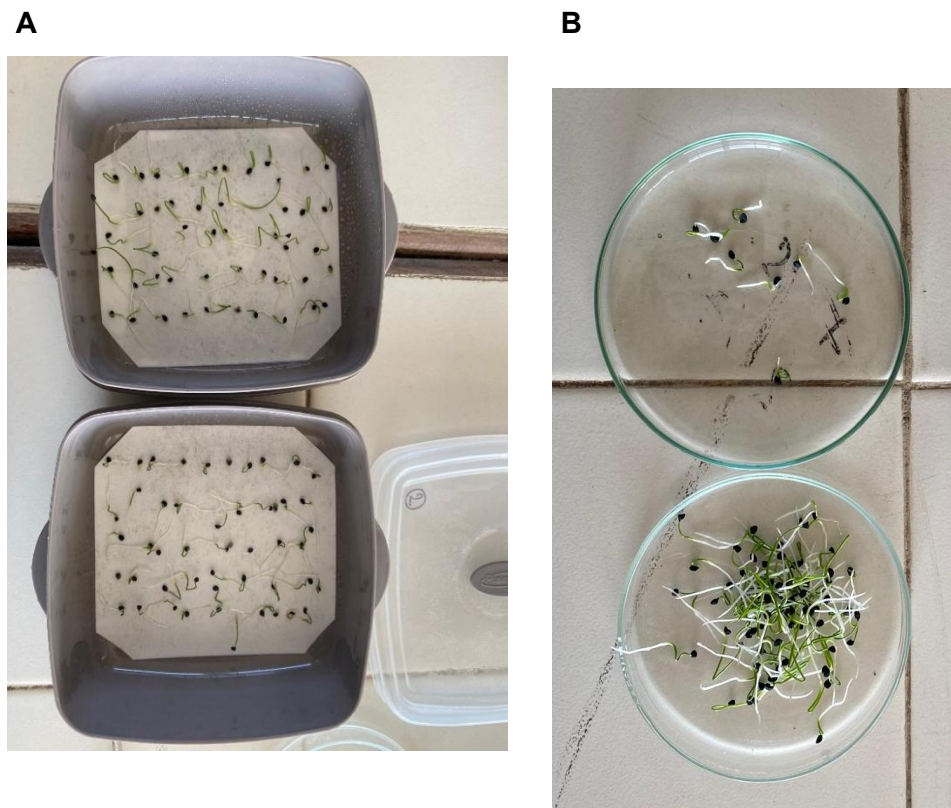
3.1.2 Peso de mil semillas

Para la determinación del peso de 1000 semillas de cada variedad, se empleó una balanza de precisión modelo RADWAG PS 510/C/2, con una precisión de 0,001g. Se realizó el conteo y peso de 100 semillas, se expresó en gramos. Se realizaron ocho repeticiones de cada variedad, y se reportó promedio de las mismas, de acuerdo a las normas ISTA (2010).

La calidad de las semillas es muy importante para la instalación de los ensayos y la interpretación de sus resultados (Figura 2). Como se observa en la tabla 1, ambas variedades cumplen con los estándares, ya que superan el 75% de germinación establecido. El peso de mil semillas en ambas variedades supera los 3 gramos, siendo Pantanoso del Sauce la que posee un peso mayor de semillas, 0,40 gramos más que Vicky.

Figura 2

Imágenes ilustrativas del proceso de evaluación de la germinación de las diferentes variedades



Nota. A. Contenedores plásticos con semillas sobre papel absorbente. *B* Conteo de plántulas con germinación normal y plántulas anormales.

Tabla 1

Resultados de germinación y peso de mil semillas de las variedades utilizadas en el experimento

Variedad	Germinación (%)	Peso de mil semillas (g)
Vicky	76,25	3,53
Pantanoso del Sauce	78,00	3,96

3.2 CEPAS UTILIZADAS

Microorganismos Benéficos:

- *Clonostachys rhizophaga*, cepa P43.
- *Trichoderma afroharzianum*, cepa TR48.

Microorganismos Patógenos:

- *Fusarium proliferatum*, cepa UR01 (proveniente de la colección de Facultad de Agronomía, Uruguay).
- *Fusarium oxysporum* f sp *cepae*, cepa NL93816 (proveniente de la colección CBS (Fungal Biodiversity Centre de los Países Bajos).
- *Botrytis squamosa*, cepa BS05 (proveniente de la colección de Facultad de Agronomía, Uruguay).

Los aislamientos benéficos fueron aislados por el Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Agronomía. Los aislamientos patógenos pertenecen a la colección del Laboratorio de Producción Vegetal, Centro Regional Sur (CRS), Facultad de Agronomía de la Universidad de la República.

El procedimiento para la multiplicación de los hongos benéficos y los patógenos fue el siguiente. Se utilizó el medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar), específico para la multiplicación de hongos. Se preparó el medio de cultivo siguiendo las indicaciones del fabricante (OXOID CM0139) y se esterilizó en autoclave a 115°C durante un tiempo de 20 min (105 min en total la rutina del autoclave). Posteriormente, se distribuyó el medio esterilizado cuando está aún líquido a 40-50 °C en placas de Petri estériles, dentro de una cámara de flujo laminar, y se dejó enfriar hasta solidificar a temperatura ambiente.

Se trabaja en cámara de flujo laminar para mantener condiciones estériles. Para la multiplicación de cada cepa, se abrió la placa de Petri que contiene el microorganismo a replicar. Se cuenta con el mechero de gas para esterilización y un vaso de Bohemia con alcohol para la desinfección de los bisturís. Con un bisturí esterilizado, se realizó un corte de la colonia del microorganismo en PDA de aproximadamente 5 x 8 mm. Se colocó cada fragmento de la colonia del microorganismo sobre el medio de cultivo PDA en una nueva placa de Petri. Se desinfectó el bisturí mediante alcohol y mechero después de cada transferencia para evitar contaminación. Las nuevas placas se incubaron en una estufa a una temperatura de 20 a 25°C.

3.3 CULTIVOS DUALES

El objetivo de los cultivos duales entre microorganismos benéficos y patógenos del cultivo fue evaluar el impacto de la interacción entre los microorganismos en el crecimiento de los patógenos, evaluada tanto en el área ocupada como en el diámetro de la colonia.

El tipo de diseño utilizado fue un Diseño Experimental Completo al Azar (DCA) con arreglo factorial, con cuatro repeticiones para cada uno de los diferentes tratamientos. Los tratamientos evaluados fueron:

- UR01 Control: Placa con *Fusarium proliferatum* cepa UR01 sin microorganismos beneficiosos.
- BS05 Control: Placa con *Botrytis squamosa* cepa BS05 sin microorganismos beneficiosos.
- BS05 + P43: Placa con *Botrytis squamosa* cepa BS05 y *Clonostachys rhizophaga* cepa P43.
- UR01 + P43: Placa con *Fusarium proliferatum* cepa UR01 y *Clonostachys rhizophaga* cepa P43.
- BS05 + TR48: Placa con *Botrytis scuamosa* cepa BS05 y *Trichoderma afroharzianum* cepa TR48.
- UR01 + TR48: Placa con *Fusarium proliferatum* cepa UR01 y *Trichoderma afroharzianum* cepa TR48.

Se colocó un plug de agar conteniendo sobre placas de Petri esterilizadas conteniendo PDA.

Se realizaron medidas de diámetro de las colonias (se mide el diámetro de las diferentes colonias de hongos en cada tratamiento), y área de las colonias (utilización del programa ImageJ, se medirá el área de las colonias para evaluar el crecimiento).

Los datos obtenidos fueron registrados en una planilla de Excel para su análisis posterior.

3.4 BIOTEST CON FUSARIUM EN POTES DE ARENA

El objetivo de este experimento es evaluar el efecto del patógeno sobre plántulas de cebolla de las dos variedades utilizadas. Además, ver como interacciona el hongo benéfico inoculado en la semilla con el patógeno, donde se evalúa plántulas normales y peso de las mismas.

El tipo de diseño experimental fue un Diseño Completamente al Azar (DCA), donde se realizaron 4 repeticiones de los diferentes tratamientos:

- Control absoluto (sin patógeno y semilla sin inocular con microorganismos benéficos)
- Control de enfermedad: arena con patógeno y semilla sin inocular,
- Semilla inoculada con *Clonostachys rhizophaga*,
- Semilla inoculación con *Trichoderma afroharzianum*,
- Arena con patógeno + semilla inoculada con *Clonostachys rizophaga*
- Arena con patógeno + semilla inoculada con *Trichoderma afroharzianum*.

Se realizó desinfección de arena fina de río con calor en autoclave a 115°C durante 20 min (105 min en total la rutina del autoclave).

También se realizó desinfección de semilla por medio de una solución de hipoclorito de sodio, preparada con 2 ml de hipoclorito en 200 ml de agua destilada por un minuto en agitación.

Luego se preparó la suspensión de esporas a las concentraciones deseadas, las cuales se incluyen en la tabla 2. Luego la semilla desinfectada se introdujo en la solución agitando durante 20 segundos aproximadamente, se las removió de la suspensión y se colocó sobre papel absorbente antes de ser llevadas a la cámara de flujo laminar para acelerar el proceso de secado.

La concentración objetivo que se buscó en este experimento es de 3×10^5 esporas/ml. Para medir esta concentración se utilizó un microscopio (Nikon, 400x) por medio de cámara de Neubauer ($0,0025 \text{ mm}^2$). En la tabla 2 se presentan las concentraciones (esporas/ml) usadas en los diferentes experimentos.

El cambio de cepa de *Fusarium oxysporum* se realizó ya que se observó no hubo una buena agresividad de la cepa UR01 en el experimento, dándose así el experimento número dos con el cambio de cepa. Luego se procede a bajar la concentración de

Fusarium oxysporum cepa NL93816, ya que la concentración había sido demasiado agresiva habiéndose perdido la mayoría de las plantas.

Tabla 2

Concentración de esporas de las diferentes cepas usadas para el biotest sobre Fusarium

EXPERIMENTO	CEPA	CONCENTRACION (esporas/ml)
N°1 03/08/2023	UR01	2,10 x10 ⁵
	P43	2,25 x10 ⁵
	TR48	3,15 x10 ⁵
N°2 21/08/2023	NL93816	3,75 x10 ⁵
	P43	2,75 x10 ⁵
	TR48	3,00 x10 ⁵
N°3 19/03/2024	NL93816	3,00 x10 ⁴
	P43	3,50 x10 ⁵
	TR48	2,80 x10 ⁵

Nota. UR01 corresponde a *Fusarium oxysporum* cepa UR01, P43 corresponde a *Clonostachys rhizophaga* cepa P43, TR48 corresponde a *Trichoderma afroharzianum* cepa TR48 y NL93816 corresponde a *Fusarium oxysporum* cepa NL93816.

Se colocó la arena en los potes de aluminio hasta alcanzar el 75% del volumen, y se realizaron surcos para la colocación de 20 semillas por pote en los diferentes tratamientos y repeticiones.

Luego se colocaron 15 ml de la suspensión con esporas del hongo patógeno por pote de arena desinfectada. A los otros potes control se colocaron 15 ml de agua destilada. Adicionalmente, se agregaron 15 ml de agua como riego a todos los potes. Luego a cada pote se le coloca una bolsa en forma de aislamiento (evitar la contaminación cruzada) y para mantener la humedad de los mismos. Estos potes son llevados a estufa con una temperatura de 27,5 °C en el día y 24°C en la noche, con un periodo de luz 12:12 horas (Caligiore-Gai et al., 2020; Galeano et al., 2014; Galván et al., 2008).

La toma de datos se realizó a los 7 (evaluación visual de los tratamientos) y a los 14 días posterior a la inoculación, donde se evaluó la cantidad de plantas normales, cantidad de plantas anormales y peso de plantas normales. Se registraron en planilla de Microsoft Excel.

3.5 INOCULACIÓN DE SEMILLA Y VIABILIDAD EN EL TIEMPO

El objetivo de esta evaluación fue analizar cómo era la viabilidad de las esporas sobre las semillas inoculadas a lo largo del tiempo, además también evaluar cuál era el mejor método de conservación de las esporas sobre la superficie de la semilla, es decir a temperatura ambiente o en heladera (4 a 5 °C). Además, se realizaron las mismas medidas de la semilla inoculada, con y sin aditivos agregados para proteger la viabilidad de las esporas sobre las semillas.

El tipo de diseño experimental es un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cuatro repeticiones por tratamiento incluyendo las variables tiempo post inoculación y temperatura de conservación. Se colocaron cinco semillas en cada placa de Petri con medio de cultivo PDA.

Se realizaron los siguientes tratamientos:

- *Trichoderma afroharzianum* cepa TR48 sin aditivos,
- *Trichoderma afroharzianum* cepa TR48 con aditivos,
- *Clonostachys rhizophaga* cepa P43 sin aditivos
- *Clonostachys rhizophaga* cepa P43 con aditivos

Primero se realizó la desinfección superficial de la semilla de cebolla en una solución de hipoclorito de sodio, preparada con 2 ml de hipoclorito en 200 ml de agua destilada. La inoculación de las semillas se realizó siguiendo el método detallado anteriormente, donde las concentraciones objetivo fueron de *Clonostachys* P43 $3,5 \times 10^5$ esporas/ml, y de *Trichoderma* TR48 $2,8 \times 10^5$ esporas/ml.

A una parte de la suspensión de esporas de los microorganismos benéficos se le agregó aditivos para mejorar viabilidad, de acuerdo a Olivera (2023). Los aditivos utilizados fueron Quitosano (Biorend 240 ml), Polietilenglicol (PEG) 2,08 g y Maltodextrina (MOR-X GLOBE) 20 g, completándose con 260 ml de agua, para obtener una solución total de 500 ml total. Se mezclaron estos aditivos con 50 ml de suspensión de esporas del microorganismo beneficioso. Luego se mezclaron durante 15 horas en un agitador magnético rotatorio (Nuova Starter a velocidad 8), con 160 rpm.

Luego, semillas de cebolla inoculadas con cada microorganismo benéfico se colocaron en placas de Petri con PDA, e incubadas en estufa a una temperatura entre 20 a 24°C. Este procedimiento detallado anteriormente se repitió a los 0, 7 y 14 días

post inoculación para evaluar el crecimiento de cada hongo benéfico inoculado en la superficie de la semilla de cebolla.

Además, se evaluaron estos tratamientos con diferentes días de conservación, a los 0, 7 y 14 días post inoculación en dos temperaturas de conservación, una temperatura alrededor de 14°C correspondiente a temperatura ambiente y otra a 4°C correspondiente a temperatura de heladera.

La evaluación consistió en la medición del área de las colonias formadas alrededor de la semilla, obtenidas con el programa ImageJ, y registradas en planillas de Microsoft Excel, y en la tasa de inoculación (%), calculada como el número de semillas con colonias típicas del hongo benéfico sobre el total de semillas evaluadas.

3.6 EVALUACIÓN DE LA SEMILLA INOCULADA EN ALMACIGO

El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de semilla inoculada con los hongos benéficos y con los aditivos en un almacigo a campo. Donde se quiere observar dinámica de la enfermedad, evolución vegetal y si hay efecto sobre el crecimiento vegetal.

Se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron los siguientes:

- Semilla control
- Semilla inoculada con *Trichoderma afroharzianum* cepa TR48
- Semilla inoculada con *Clonostachys rizophaga* cepa P43
- Semilla inoculada con *Trichoderma afroharzianum* cepa TR48 más aplicación foliar
- Semilla inoculada con *Clonostachys rizophaga* cepa P43 más aplicación foliar

Se realizó la inoculación el 19 de marzo de 2024 donde se llevó a cabo el mismo método de inoculación trabajado en los ítems anteriores, donde se realiza la suspensión de esporas, en este caso se usó una concentración de *Clonostachys* P43 de $3,5 \times 10^5$ esporas/ml, y concentración de *Trichoderma* TR48 $2,8 \times 10^5$ esporas/ml. Se mezcló con los aditivos de igual forma que en el ítem anterior, donde se cambió el tiempo de agitación que paso a ser de 3 horas en el agitador magnético rotatorio (Nuova Starter a velocidad 8).

Se realizó la preparación de los bloques, donde las parcelas eran de 1 x 1 metros, donde las 4 líneas de siembras se realizaron en los primeros 75 cm dejando así una separación entre tratamientos de 25 cm. La siembra se realizó el 21 de marzo de 2024, donde en cada una de las parcelas se sembraron 2 gramos de semilla. En la Figura 3, se detalla el croquis del almacigo (referencias a las leyendas en la Figura 4).

Luego se realizaron aplicaciones foliares a los 30 y 60 días post siembra en los tratamientos que correspondía, donde las concentraciones utilizadas para estas aplicaciones fueron las que se detallan en la tabla 3. Estas soluciones para la aplicación foliar fueron con aditivos. Donde se usó la misma metodología y cantidades usadas en los ítems anteriores, donde el total de la solución aplicada fue de 500 ml, utilizándose como método de aplicación la aspersion.

Figura 3

Croquis de la ubicación: parcelas en diferentes tratamientos dentro del experimento de almacigo a campo

Camino				
		Cantero 1		cantero 2
20 m total	1 repeticion	PC	3 repeticion	VIC+AF
		VC		PIC+AF
		PIT		VIC
		VIT		PIC
		PIT+AF		VIT+AF
		VIT+AF		PIT+AF
		PIC		VIT
		VIC		PIT
		PIC+AF		VC
		VIC+AF		PC
	2 repeticion	VIT	4 repeticion	VIC
		PIT		PIC
		VIT+AF		PIC+AF
		PIT+AF		VIC+AF
		PC		VC
		VC		PC
		VIC+AF		PIT+AF
		PIC+AF		VIT+AF
		PIC		PIT
		VIC		VIT

Figura 4

Referencia de los tratamientos realizados en la evaluación en almácigo

Pantanos control
vicky control
pantanos inoculada trichoderma
vicky inoculada trichoderma
pantanos inoculada clonostachys
vicky inoculada clonostachys
pantanos inoculada trichoderma + AF
vicky inoculada trichoderma + AF
pantanos inoculada clonostachys + AF
vicky inoculada clonostachys + AF

Tabla 3

Fechas de aplicación foliar a los tratamientos correspondientes y concentraciones utilizadas en cada caso

APLICACIÓN FOLIAR	CEPA	CONCENTRACION (esporas/ml)
23/04/2024	P43	$3,53 \times 10^5$
	TR48	$4,20 \times 10^5$
22/05/2024	P43	$4,10 \times 10^5$
	TR48	$3,87 \times 10^5$

Nota. P43 corresponde a *Clonostachys rhizophaga* cepa P43, TR48 corresponde a *Trichoderma afroharzianum* cepa TR48.

Para la evaluación del crecimiento de las plantas, se tomaron dos muestreos de 10 plantas cada uno en las diferentes repeticiones de los tratamientos, uno a los 60 días post siembra (22/5/2024) y otro muestreo a los 90 días post siembra donde finalizó el periodo de evaluación (24/6/24). Las variables medidas fueron el número de hojas, la altura de las plantas en centímetros, peso total, peso de las hojas, peso de bulbillito más raíz, diámetro del bulbillito en milímetros (utilización de un calibre), e incidencia de *Botrytis squamosa* (Galván et al., 2004).

4. RESULTADOS

4.1 CULTIVOS DUALES

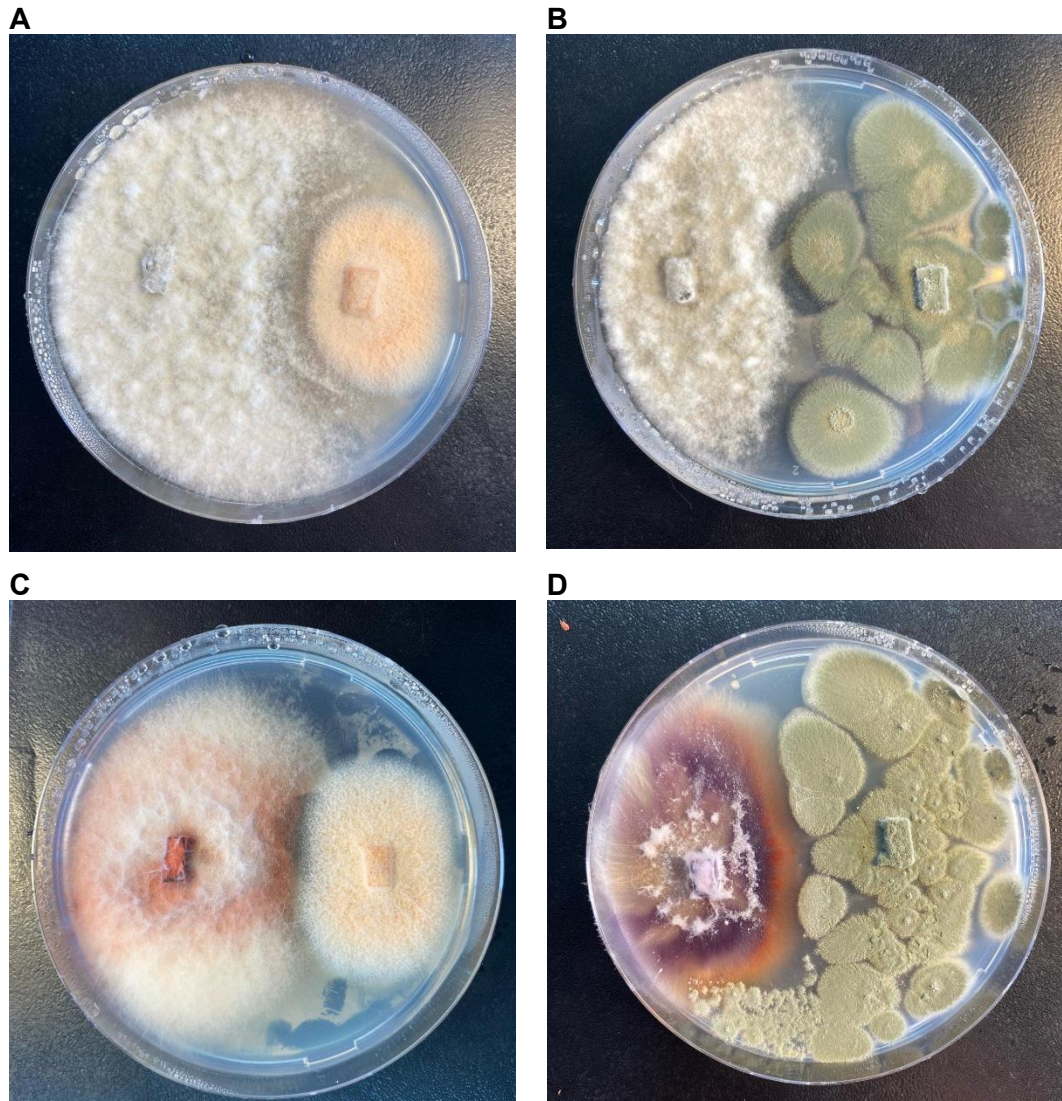
En este ensayo se observó el comportamiento en placas de Petri conteniendo medio PDA, de los diferentes patógenos (*Fusarium* y *Botrytis*) frente a los diferentes controladores biológicos (*Trichoderma* y *Clonostachys*), en condiciones ideales de crecimiento (Figura 5).

Se verificó un efecto de interacción entre el patógeno y el controlador biológico presente. Importa que el patógeno esté presente en el ambiente y a cuál controlador biológico se enfrente, ya que como las condiciones de crecimiento son iguales para todos los tratamientos, las diferencias se dan por combinaciones que presentan diferentes respuestas, ya que por ejemplo *Clonostachys* necesita más de 7 días para su máxima colonización.

Como podemos observar en la tabla 4, respecto al aislamiento de *Botrytis squamosa*, ambos controladores tuvieron efecto en reducir el área de la colonia del patógeno, siendo *Trichoderma* el controlador que tuvo mayor control, ya que el tratamiento control de *Botrytis* tuvo un área de 55,9 cm², mientras que cuando se aplicó *Trichoderma* el área del patógeno fue de 25,1 cm² ($p < 0,05$), y con *Clonostachys* fue de 43,4 cm² ($p < 0,05$). En cambio, cuando el patógeno fue *Fusarium*, el agregado de *Clonostachys* no tuvo efecto significativo de disminuir el área del patógeno, pero el agregado de *Trichoderma* redujo el área de crecimiento del patógeno, pasando de 35,9 cm² a 20,9 cm² ($p < 0,05$).

Figura 5

Cultivos duales de los diferentes patógenos y controladores



Nota. A. Enfrentamiento de Botrytis squamosa contra Clonostachys rhizophaga. B. Botrytis squamosa contra Trichoderma afroharzianum. C. Fusarium proliferatum contra Clonostachys rhizophaga. D. Fusarium proliferatum contra Trichoderma afroharzianum.

Tabla 4

Interacción patógena vs controlador biológico en cultivos duales sobre medio PDA

Controlador biológico	Patógeno	Área de crecimiento del patógeno (cm ²)
CONTROL	BS05	55.9 a
CONTROL	UR01	35.9 c
P43	BS05	43.3 b
P43	UR01	29.8 cd
TR48	BS05	25.1 de
TR48	UR01	20.9 e

Nota. BS05 *Botrytis squamosa*, UR01 *Fusarium proliferatum*, P43 *Clonostachys rhizophaga*, TR48 *Trichoderma afroharzianum*.

En la tabla 5, podemos comparar ambos controladores biológicos en el área de crecimiento de sus colonias, donde claramente *T. afroharzianum* tuvo un área promedio de 27,7 cm² mientras que *C. rhizophaga* posee un área promedio de 12,9 cm². Esta comparación da una idea más clara, que, dentro de estos controladores, el poder de crecimiento de *Trichoderma* fue significativamente superior a *Clonostachys*.

En la figura número 6 podemos observar lo descrito anteriormente. Cuando nos referimos al área de *Fusarium*, el agregado de controladores biológicos hace que ésta baje, siendo más notorio con el agregado de *Trichoderma*. Lo mismo sucede para *Botrytis*, ya que se observó una reducción significativa del área de crecimiento del patógeno con *Clonostachys* ($p < 0,05$) y mayor aun cuando se enfrentó con *Trichoderma*. En conclusión, el agregado de controladores biológicos tiene un efecto en bajar el área de crecimiento de los patógenos in vitro.

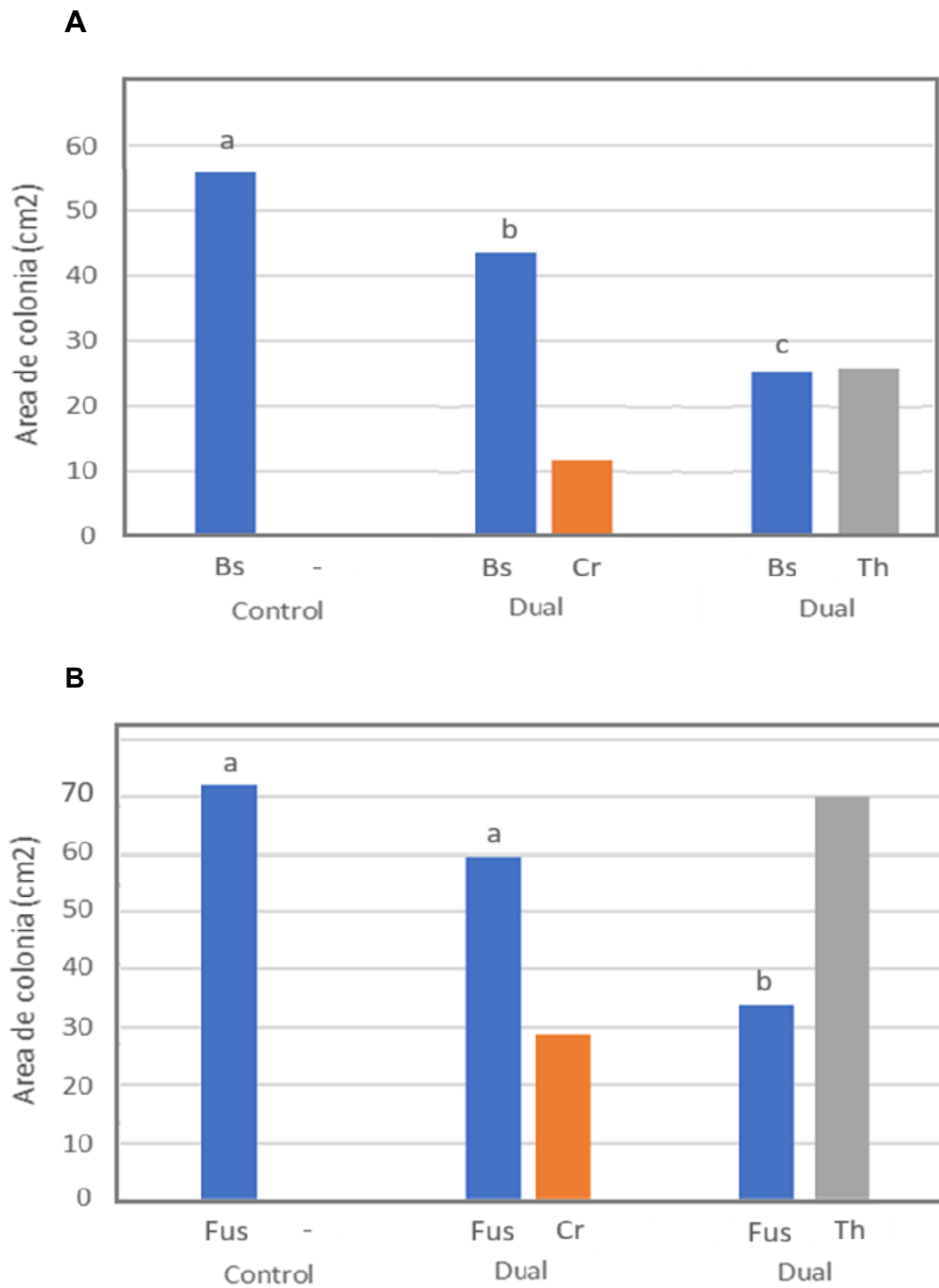
Tabla 5

Diferencial en controladores biológicos (Trichoderma y Clonostachys) sobre medio PDA

Controlador Biológico	Área de controlador (cm ²)
<i>Trichoderma afroharzianum</i>	27,7 a
<i>Clonostachys rhizophafa</i>	12,9 b

Figura 6

Áreas de patógeno (A) *Botrytis squamosa* y (B) *Fusarium proliferatum* respecto al controlador biológico agregado



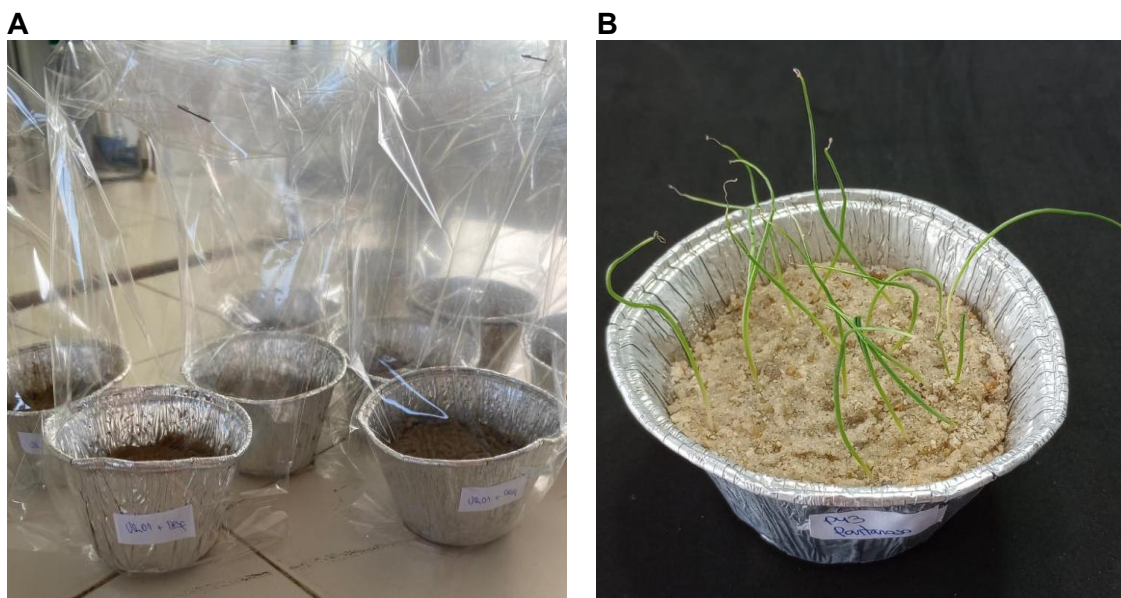
Nota. (Cr) *Clonostachys rhizophaga* y (Th) *Trichoderma afroharzianum*.

4.2 BIOTEST DE FUSARIUM EN EL LABORATORIO

Este ensayo consistió en la inoculación de arena con *Fusarium*, y donde la semilla de cebolla está previamente inoculada con los controladores biológicos (*T. afroharzianum* o *C. rhizophaga*), como se puede ver en la figura 7, donde ilustra el proceso que se llevó a cabo para ambas variedades de cebolla. Cada pote de aluminio tuvo su respectivo tratamiento, donde se realizó para cada pote un conteo de plantas normales (sobre un total de 20 semillas), plantas anormales y peso de plantas normales luego de 14 días instalado el experimento.

Figura 7

Imágenes que ilustran el proceso de realización de biotest de *Fusarium* en condiciones de laboratorio



Nota. **A.** potes de arena con la semilla, colocados en bolsas de nailon para aislar y mantener un ambiente parejo. **B** Potes de arena con plántulas de cebolla germinadas.

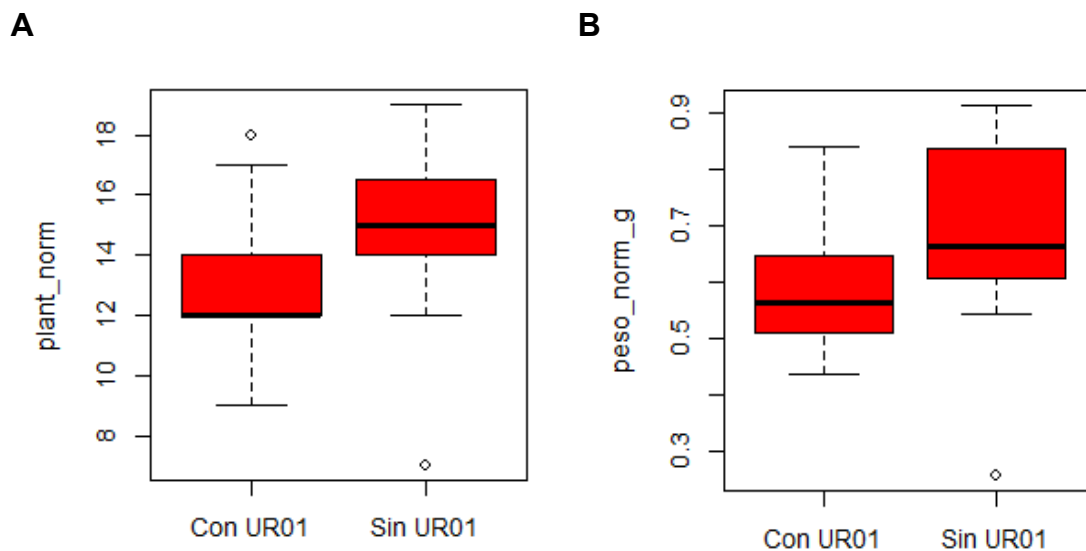
En la gráfica presentada en la figura 8, podemos observar la diferencia de plantas normales en cantidad, cuando los potes de arena presentaban o no presentaban agregado de *F. proliferatum*. En base al diseño del biotest, la hipótesis es que en los potes donde esté presente el patógeno haya menos plantas normales. En este caso, esta hipótesis se confirmó, en los potes donde había presencia de patógeno la cantidad de plantas normales fue menor. Respecto al peso de las plantas la hipótesis era en el mismo sentido: plantas que han sido sembradas en contacto con el patógeno pudieron

ser infectadas, y tienen menor peso que las que no se encuentran infectados con el patógeno.

Cuando se observa la variable genética, que es un factor importante a considerar, el comportamiento de Pantanoso del Sauce y Vicky en número de plantas normales y en el peso de las plántulas normales fue mayor la primera, aunque sin diferencias estadísticas. Como se vio en el ensayo de calidad de semilla, Pantanoso del sauce ya presentaba mejor peso en 1000 semillas comparado con Vicky, donde a mejor peso de semilla, mayor es el vigor de las plántulas en cuestión.

Figura 8

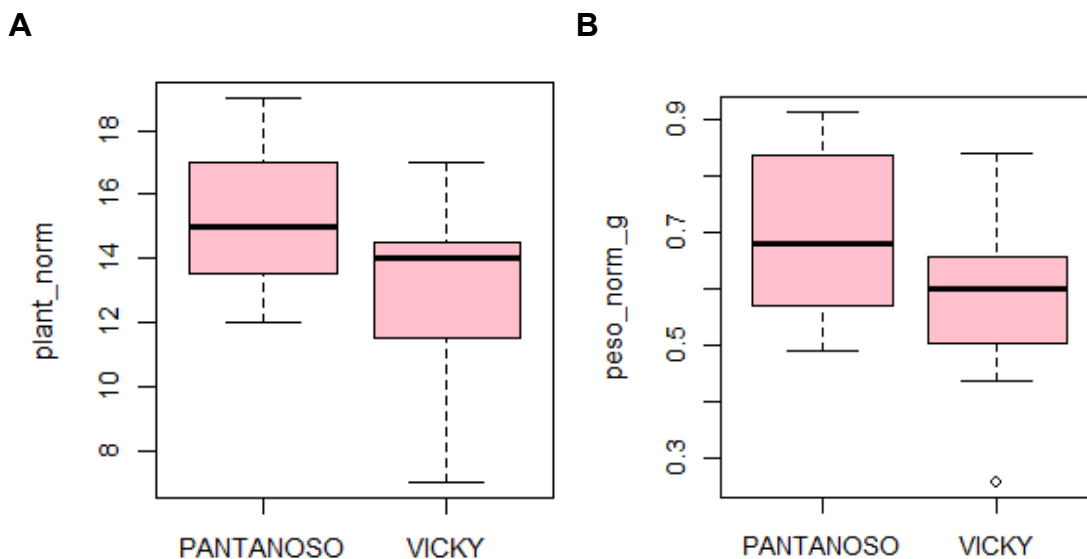
*Plantas con o sin agregado de *F. proliferatum*, variable número y peso de plantas normales*



Nota. variables de **(A)** número de plantas normales y **(B)** peso de plantas normales.

Figura 9

Efecto de la genética en las variables número y peso de plantas normales



Nota. (A) número de plantas normales y (B) peso de plantas normales.

En el análisis estadístico, en la prueba de Tukey con un 95% de confianza se observó que había una interacción del patógeno, el controlador y la variedad al referirnos al peso de plantas normales (anexo A), donde los únicos tratamientos que se diferenciaban eran los tratamientos sin patógeno con *T. afroharzianum* en la variedad Pantanoso del Sauce, en contraste del tratamiento con patógeno, sin controlador biológico en la variedad Vicky.

Para la información las variables de número de plantas normales y número de plantas anormales, se encontró que la interacción de las variables no dio significancia, no se diferenció, a pesar de que visualmente como se nombró anteriormente hubo diferencias visuales.

Cuando se evaluó el peso promedio por planta, nos mostró una interacción en la combinación del patógeno con el controlador biológico, como se puede ver en la tabla 6.

Tabla 6

Anova de la variable de peso promedio por planta

Fuente	Df	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	p-valor	Significancia
Patógeno	1	0.00001710	1.7101e-05	0.99	0.325	Ns
CB	3	0.00005492	1.8306e-05	1.06	0.376	Ns
Genética	1	0.00002666	2.6658e-05	1.55	0.221	Ns
Patógeno×CB	1	0.00008503	8.5032e-05	4.93	0.0319	*
Residuales	41	0.00070656	1.7233e-05			

Nota. El patógeno usado es la cepa UR01 correspondiente a *F. proliferatum*.

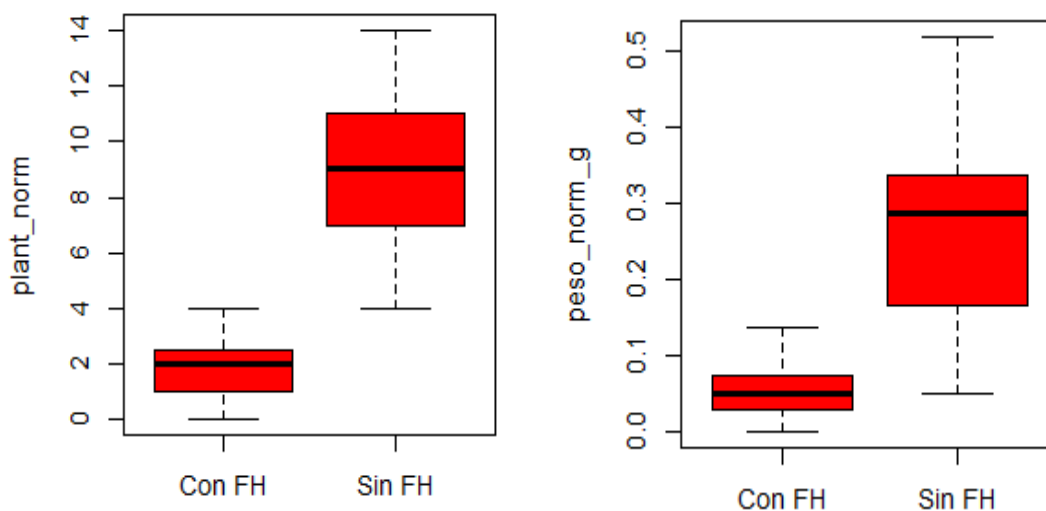
Cuando se realizaron las pruebas de Tukey para la variable peso promedio de plántula, con una confianza del 95%, no se generaron diferencias significativas entre los tratamientos. Aunque los factores principales (patógeno, controlador biológico y genética) no presentaron efectos significativos por separado sobre el peso promedio por planta, se observó una interacción significativa entre patógeno y controlador ($p = 0.0319$). Esto indica que el efecto del tratamiento biológico dependió de la presencia del patógeno.

Posteriormente, se realizaron los mismos análisis para la cepa *F. oxysporum* NL93816. En este caso, el agregado del patógeno en el ensayo tuvo el mismo comportamiento que la cepa UR01, donde el número de plantas normales y el peso de las plantas fue menor cuando estuvo presente, como se observa en la figura 10.

En el análisis estadístico, se encontró significancia en la interacción de los tres factores (genética, patógeno y controlador biológico). Pero al observar el test de Tukey, como se puede ver en la tabla 7, la presencia del patógeno redujo significativamente el peso de plantas normales en todas las combinaciones, pasando de un máximo de 0,350 g a 0,070 g. Además, se puede observar, que, sin importar la genética, el efecto del tratamiento biológico se vio comprometido por el patógeno.

Figura 10

Plantas con o sin agregado de F. oxysporum, variable número y peso de plantas normales



Nota. FH corresponde a *F. oxysporum* cepa NL93816, proveniente de Holanda.

Tabla 7

Efecto de F. oxysporum sobre la variable peso con interacción de variedad y controlador biológico

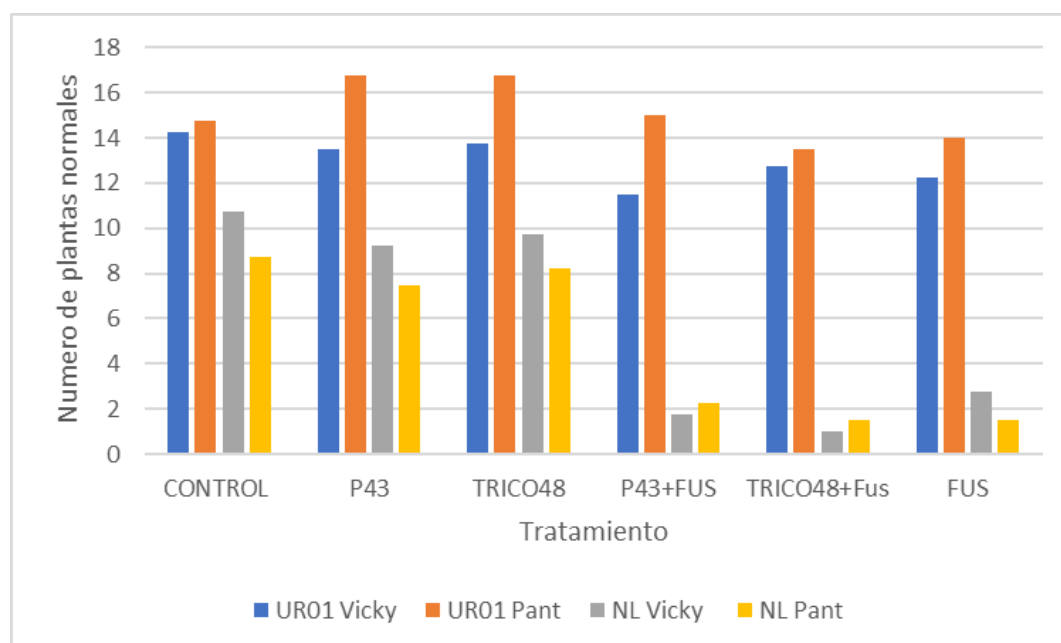
Patógeno	CB	Genética	Medias ajustadas (peso en gramos)
Sin FH	CONTROL	VICKY	0.350 a
Sin FH	TRICO48	VICKY	0.313 ab
Sin FH	P43	VICKY	0.286 abc
Sin FH	CONTROL	PANTANOSO	0.249 abcd
Sin FH	TRICO48	PANTANOSO	0.228 abcd
Sin FH	P43	PANTANOSO	0.209 abcd
Con FH	Sin	VICKY	0.076 bcd
Con FH	P43	PANTANOSO	0.073 bcd
Con FH	P43	VICKY	0.047 cd
Con FH	Sin	PANTANOSO	0.042 cd
Con FH	TRICO48	PANTANOSO	0.038 d
Con FH	TRICO48	VICKY	0.030 d

Nota. FH *F. oxysporum*, TR48 *T. afroharzianum*, P43 *C. rhizophaga*. Peso de plántula (g) para las dos variedades de cebolla y sus respectivos controladores biológicos (CB).

Como se observa en la figura 11, cuando agregamos un controlador biológico, sea *Trichoderma afroharzianum* o *Clonostachys rhizophaga* aumenta el número de plantas normales si el patógeno no se encuentra. Pero cuando se incorporó el patógeno, para ambas variedades de cebolla el número de plantas normales es menor que en el tratamiento control. Si observamos las cepas de los patógenos, la agresividad de *F. oxysporum* NL83916 fue mayor que *F. proliferatum* UR01. El mismo comportamiento tuvo el peso promedio por planta: como se ve en la figura 11, en todos los tratamientos realizados cuando se hizo el ensayo con la cepa de *F. oxysporum*, todos los pesos fueron muy bajos en comparación con los otros tratamientos, en torno a 0,02 y 0,03 g cuando la concentración del patógeno utilizada fue de 3×10^4 esporas/mL.

Figura 11

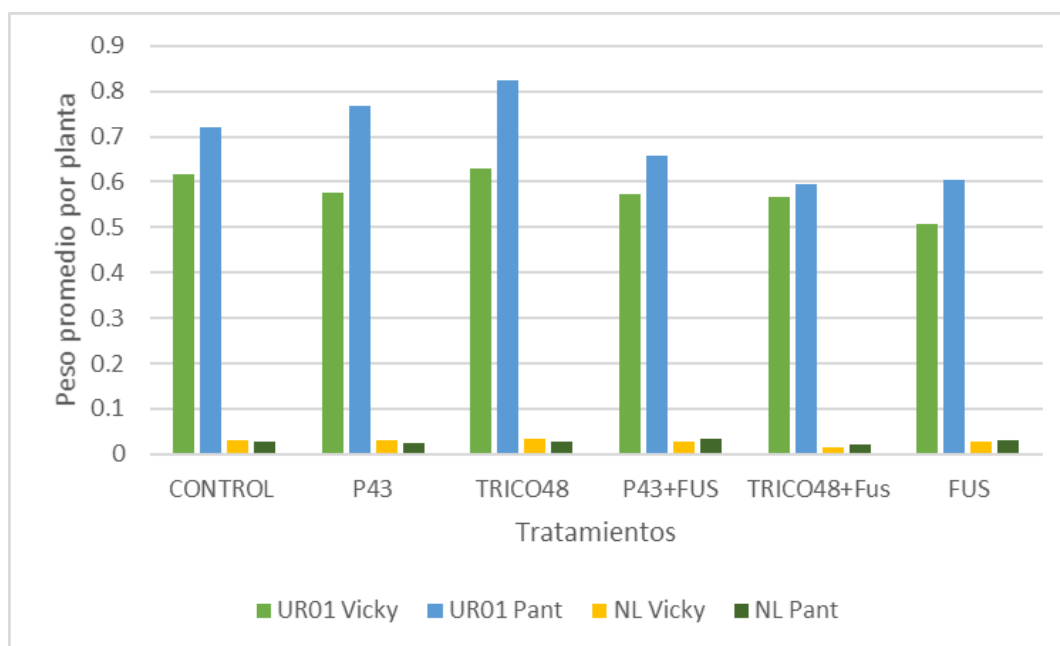
Comparación de las dos cepas de Fusarium en número de plantas normales



Nota. UR01: *F. proliferatum*, NL: *F. oxysporum*, TRICO48: *T. afroharzianum*, P43: *C. rhizophaga*.

Figura 12

Comparación de las dos cepas de *Fusarium* en peso promedio de plantas normales



Nota. UR01: *F. proliferatum*, NL: *F. oxysporum*, TRICO48: *T. afroharzianum*, P43: *C. rhizophaga*.

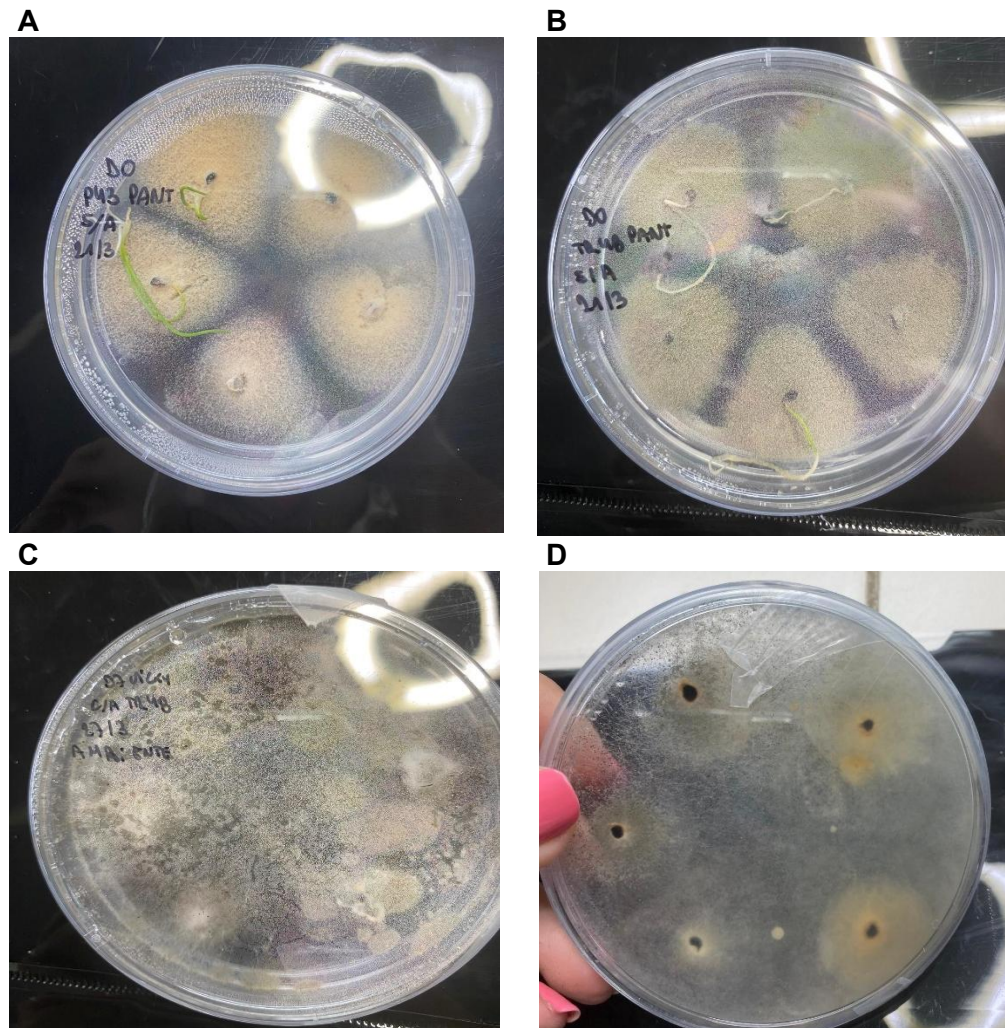
4.3 VIABILIDAD DE LA INOCULACIÓN DE LAS SEMILLAS EN EL TIEMPO

En esta sección se presenta el experimento con el cual se evaluó el crecimiento de las colonias alrededor de las semillas inoculadas con controladores biológicos, en las dos variedades evaluadas, sobre placas de Petri con medio de cultivo PDA, donde comparamos los diferentes días post inoculación (0, 7 y 14 días), temperatura de conservación y uso de aditivos que mejoren la viabilidad de las esporas (Figura 12).

En el análisis de ANOVA, respecto al área total de las colonias, nos indica que hay interacciones entre la genética, el controlador biológico utilizado, el método de conservación utilizado y si hubo o no agregado de aditivos, pero también influyó el tiempo de conservación post inoculación, como se puede ver en la tabla 8.

Figura 13

Placas de Petri con colonias de controladores biológicos a partir de semillas previamente inoculadas



Nota. Se visualiza parte del proceso experimental. Se realizó a 0, 7 y 14 días post inoculación, con las dos variedades, con o sin aditivos y en conservación a temperatura ambiente o heladera. **A.** Semilla Pantanoso, con *C. rhizophaga* día 0, con 100% de inoculación exitosa. **B.** Semilla Pantanoso, con *T. afroharzianum* día 0. **C.** semilla Vicky con *T. afroharzianum*, con aditivo conservada en ambiente, día 7. **D** semilla Vicky con *C. rhizophaga*, con aditivo conservada en heladera, día 14.

Tabla 8

Resumen de efectos significativos en viabilidad de semilla inoculada - Variable: Área de la colonia

Interacción	Grados de libertad (DF)	F value	p-value	Significancia
Genética	1	138.73	< 2.2e-16	***
Controlador biológico	1	53.22	3.507e-11	***
Tiempo	2	11.06	3.893e-05	**
Conservación	1	18.77	3.083e-05	**
Uso de aditivos	1	22.38	6.176e-06	**
Genetica:CB	1	6.91	0.009718	**
Tiempo:conservación	1	5.80	0.017591	*
Genetica:aditivos	1	60.07	3.296e-12	***
CB:aditivos	1	14.26	0.0002487	***
Genetica:tiempo:cons	1	10.37	0.0016499	**
CB:tiempo:aditivos	2	5.52	0.0050857	**
CB:cons:aditivos	1	9.83	0.0021539	**
Genetica:CB:tiempo:cons	1	5.91	0.0165151	*
Genetica:CB:cons:aditivo	1	14.81	0.0001922	***

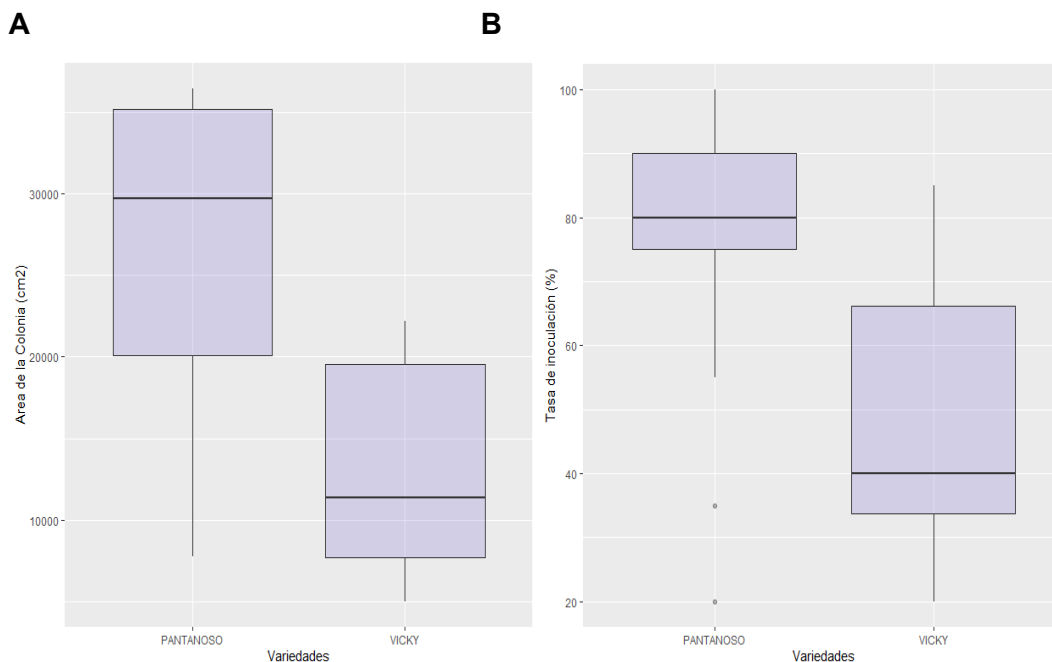
Nota. cons= conservación post inoculación, CB= controlador biológico.

Con la realización de test de Tukey podemos observar (anexo B) que la mejor performance en viabilidad de las semillas se dio con la combinación Pantanoso, inoculada con *T. afroharzianum*, 7 días post inoculación en temperatura ambiente y sin agregado de aditivos. En tanto, la peor performance fue de la variedad Pantanoso inoculado con *C. rhizophaga*, 14 días post inoculación con conservación en heladera (4-5 °C) y con el agregado de aditivos.

Si hablamos de cada factor por separado podemos ver que, en las medias de las áreas, aun cuando no eran esperables diferencias entre variedades de cebolla en la viabilidad de las esporas, la variedad Pantanoso fue superior en la mayoría de los casos comparado con Vicky, como se ve en la figura 13.

Figura 14

Comparación de áreas de crecimiento y tasa de inoculación en las diferentes variedades



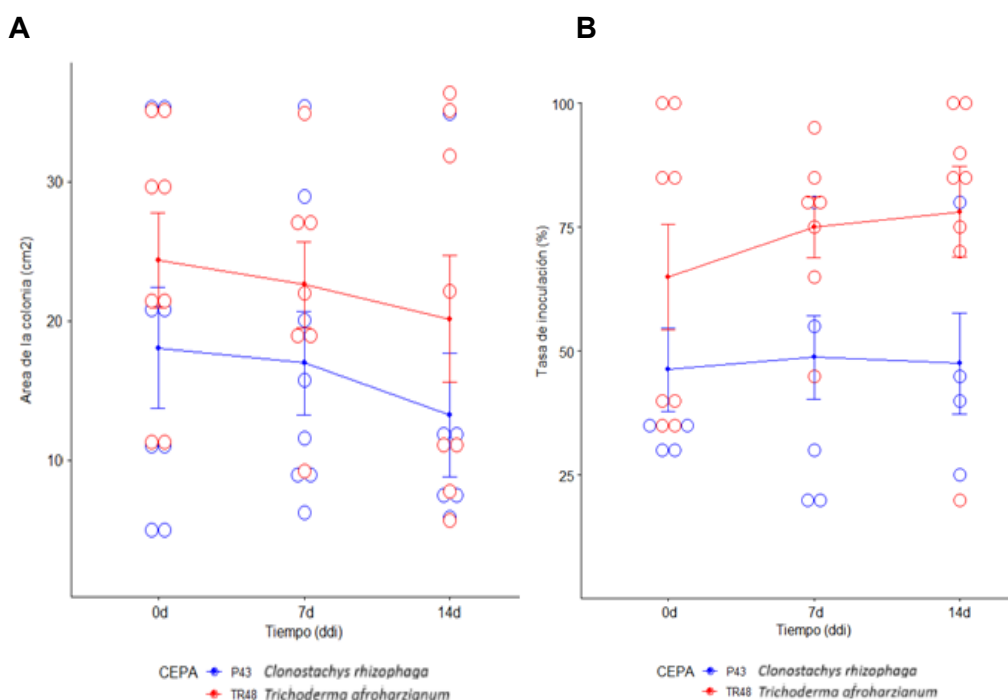
Nota. Área de los controladores biológicos en cm² y de la tasa de inoculación en porcentaje (%).

Respecto al controlador biológico, también se puede observar que *Trichoderma afroharzianum* tuvo mayores medias que *Clonostachys rhizophaga* (figura 14), tanto en el área de las colonias que crecieron a partir de las semillas de cebolla inoculadas, así como en la proporción de semillas que desarrollan colonias de cada controlador biológico *in vitro*.

Si vemos el tiempo podemos ver que a medida que aumentan los días post inoculación, las áreas de las colonias a partir de las semillas inoculadas tienden a disminuir a las 7 y a los 14 días, en comparación con el área evaluada en el día de la inoculación (0 días). Esto se debe a que las esporas van disminuyendo su capacidad de germinar (figura 14), aunque no se observa disminución en el porcentaje de semillas que forman colonias del controlador biológico.

Figura 15

Viabilidad en el tiempo de los controladores biológicos, variable: área y tasa de inoculación



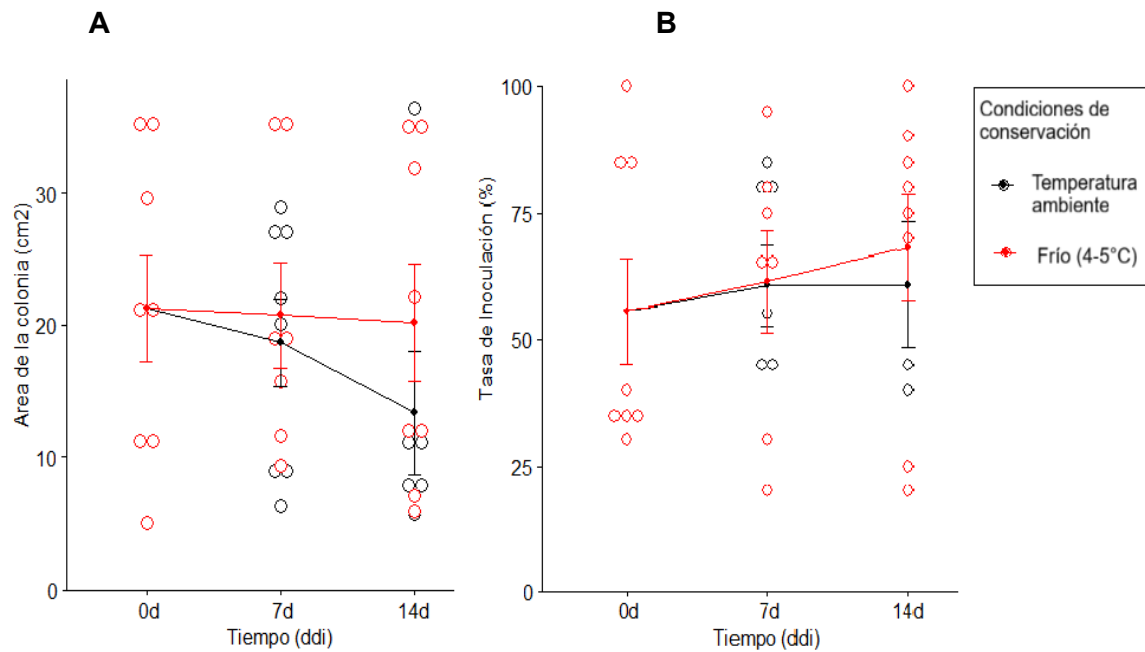
Nota. P43: *C. rhizophaga*. TR48: *T. afroharzianum*. **(A)** el área de la colonia (cm²) y **(B)** la tasa de inoculación de las semillas (%).

La conservación de las semillas inoculadas se vio asociada a medias más bajas en las variables a los 7 y los 14 días cuando se dio conservación en temperatura ambiente, comparando con heladera (4-5 °C) (Figura 15). Por tanto, si bien los valores son similares, es recomendable la conservación en frío, que muestra que se mantiene la viabilidad de las esporas en un período de dos semanas posterior a la inoculación.

El agregado de aditivos a la suspensión de esporas del controlador biológico, con el fin de mejorar la conservación de las esporas, tuvo un efecto negativo (Figura 16). Los productos agregados (maltodextrosa, PEG y quitosano) no estaban esterilizados, y produjeron muchas contaminaciones en la evaluación *in vitro* de las semillas inoculadas, particularmente con la variedad Pantanoso.

Figura 16

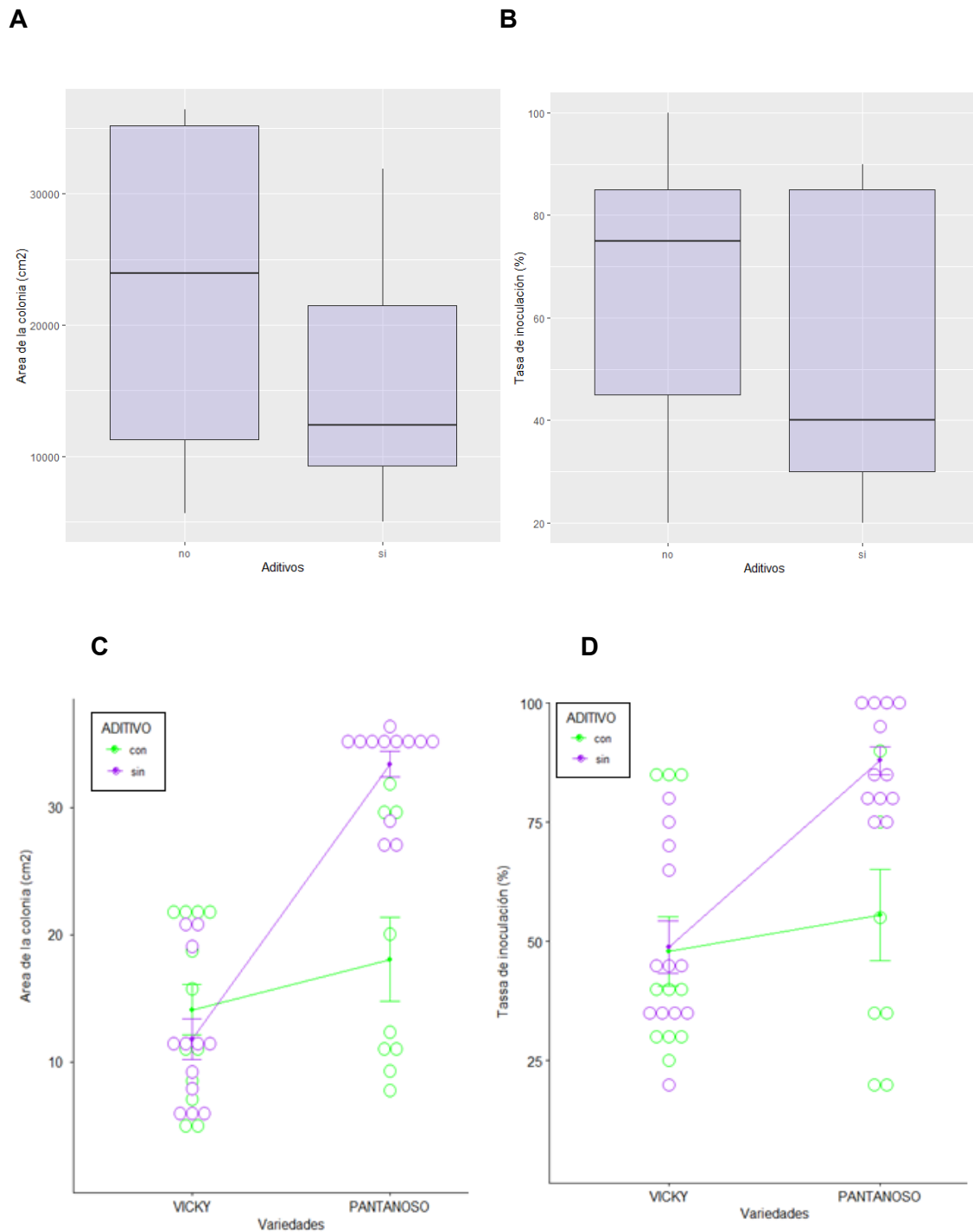
Viabilidad de T. afroharzianum y C. rizhophaga según temperatura de la conservación post inoculación



Nota. (A) el área de la colonia (cm²) y (B) en la tasa de inoculación de las semillas (%).

Figura 17

Viabilidad de *T. afroharzianum* y *C. rizhophaga* con y sin el agregado de aditivos



Nota. (A, C) área de crecimiento de la colonia (cm²); (B, D) tasa de inoculación de las semillas (%). Datos promedio de las evaluaciones a los 0, 7 y 14 días post inoculación de semilla con y sin agregado de aditivos en la solución.

4.5 CRECIMIENTO VEGETAL

Este ensayo para la evaluación del efecto promotor del crecimiento de los hongos benéficos constó de la siembra en almacigo de las variedades Pantanoso del Sauce y Vicky en el Centro Regional Sur, de la Facultad de Agronomía, UDELAR. Se realizó la evaluación de altura de plantín, número de hojas, y peso, condiciones que son de importancia a la hora de realizar el trasplante, ya que será un factor en el rendimiento del cultivo. La evaluación sanitaria no fue realizada, como consecuencia de la baja incidencia de manchas causadas por *Botrytis squamosa*.

En la evaluación de altura de plantas se observó una interacción entre la genética, la inoculación de la semilla con el controlador biológico y las aplicaciones foliares que se realizaron a los 30 y 60 días post siembra. La mayor altura promedio se dio con la combinación de Pantanoso del Sauce inoculada con *T. afroharzianum* sin aplicación foliar. En general, Pantanoso tuvo mayores alturas comparado con Vicky. La altura menor fue la obtenida con la combinación de Vicky inoculada con *C. rhizophaga* y con aplicación foliar adicional (tabla 9).

Figura 18

Almacigo instalado en el Centro Regional Sur (CRS), en Progreso, Canelones



Tabla 9

Comparación de alturas de plantines de las variedades Pantanoso del Sauce y Vicky

GENÉTICA	Controlador Biológico	Altura	(cm)
Pantanoso	TR48	32.4	a
Pantanoso	CONTROL	31.0	ab
Pantanoso	P43	30.3	abc
Pantanoso	P43 + Foliar	29.6	bcd
Pantanoso	TR48 + Foliar	28.1	cde
Vicky	P43	27.8	cde
Vicky	CONTROL	27.8	cde
Vicky	TR48	26.9	de
Vicky	TR48 + Foliar	26.4	e
Vicky	P43 + Foliar	26.4	e

Nota. Foliar = recibió aplicación foliar a los 30 y 60 días post siembra. TR48:

Trichoderma afroharzianum; P43: *Clonostachys rhizophaga*.

Cuando se evaluó el peso total de las plantas, podemos ver en el ANOVA que la interacción con mayor relevancia es la de genética con la aplicación foliar, y genética con la inoculación de semilla, pero también hay significancia en los días de muestreos por separado. En el test de Tukey dio las mismas performances la interacción de la genética con la inoculación de semilla con el controlador biológico. En general, plantas más altas son las que tuvieron mayor peso, y viceversa. Cuando evaluamos la interacción genética con aplicación foliar, la variedad Pantanoso sin aplicación foliar de *Trichoderma* (TR48) es la que tuvo una performance menor con significancia, en comparación con la aplicación de *Trichoderma* (TR48) solamente inoculada en las semillas.

Si el peso total de la planta lo separamos en peso de hoja y peso de raíces más bulbillo, en el peso de las hojas podemos ver que las interacciones se repiten, pero el peso de hoja fue mayor en la combinación de la variedad Pantanoso inoculada con *C. rhizophaga*, y la combinación menos favorable fue la de Vicky inoculada también con *C. rhizophaga*, como se ve en la tabla 10.

Tabla 10*Comparación de peso de hoja con inoculación de semilla*

Genética	Controlador Biológico	Peso promedio (g)	Significancia
Pantanoso	P43	3,92	A
Pantanoso	TR48	3,53	Ab
Vicky	TR48	3,10	B
Vicky	P43	3,04	B

Nota. TR48: *T. afroharzianum* P43: *C. rhizophaga*.

En el caso del peso de bulbillo más raíz, tenemos las interacciones dobles nombradas anteriormente, pero vemos que también hay interacción entre la genética, inoculación de semilla con los agentes de control biológico y la aplicación foliar realizada. Como podemos ver en la tabla 11, la mejor combinación fue la variedad Pantanoso inoculada con *C. rhizophaga* sin aplicación foliar (4,35 g), que al igual con el peso de hoja que fue el mayor peso (3,92 g). En tanto, el tratamiento control de Vicky sin inocular fue el que tuvo menor peso de bulbillo más raíz (2,81 g).

Tabla 11*Interacción genética, control biológico y aplicación foliar en peso de bulbillo más raíz en almacigo*

GENÉTICA	CB	Peso promedio (g)	
Pantanoso	P43	4.35	a
Pantanoso	TR48	4.15	a
Pantanoso	CONTROL	4.05	a
Pantanoso	P43 + Foliar	3.49	ab
Vicky	TR48 + Foliar	3.38	ab
Pantanoso	P43	3.23	ab
Vicky	P43	3.07	b
Vicky	P43 + Foliar	3.01	b
Pantanoso	TR48 + Foliar	2.91	b
Vicky	TR48	2.83	b
Vicky	CONTROL	2.81	b

Nota. TR48: *T. afroharzianum* P43: *C. rhizophaga*. CB: Control biológico.

La siguiente variable fue el diámetro del bulbo, o diámetro máximo de la planta, donde también la interacción genética, semilla inoculada y aplicación foliar es relevante (tabla 12). En este caso la mayoría de los tratamientos supera los 4 mm de diámetro, mientras que el que tuvo menor diámetro fue la combinación de Pantanoso inoculada con *Clonostachys rhizophaga* P43 sin aplicación foliar (2,36 mm).

Tabla 12

Interacción genética, inoculación de las semillas y aplicación foliar en el diámetro de las plantas

GENÉTICA	CB	Diámetro (mm)	Grupo
Vicky	P43	5.28	A
Vicky	TR48 + Foliar	5.18	A
Pantanoso	TR48 + Foliar	5.03	A
Vicky	TR48	5.01	A
Vicky	P43 + Foliar	4.90	A
Vicky	CONTROL	4.81	A
Pantanoso	P43	4.70	Ab
Pantanoso	CONTROL	3.94	Bc
Pantanoso	TR48	3.92	Bc
Pantanoso	P43	3.75	C
Pantanoso	P43	2.36	D

Nota. TR48: *T. afroharzianum* P43: *C. rhizophaga*.

En este experimento se evaluaron las manchas de *Botrytis squamosa*, pero no hubo diferencias significativas, ya que la mayoría de las plantas no presentaron manchas en hojas. Esta baja severidad se debe a un error experimental al bajar la densidad de plantación, un aspecto a mejorar en futuros experimentos con controladores biológicos.

5. DISCUSIÓN

En este trabajo se evaluó el agregado de microorganismos benéficos al sistema es beneficioso para el control de enfermedades y para el crecimiento de las plantas de cebolla. Como fue planteado por De Lima Andreatta et al. (2025), el impacto en el desarrollo de nuevas técnicas de control biológico es muy favorable y con expectativas de un amplio crecimiento a nivel regional.

En la evaluación de la calidad de las semillas se generaron datos para identificar el punto de partida de los experimentos siguientes. Los resultados fueron los esperados, ya que, para ambas variedades de cebolla, las semillas utilizadas cumplieron los estándares de calidad propuestos por INASE (2013), referida a la pureza y germinación de la misma. No obstante, el porcentaje de germinación estuvo apenas por encima del mínimo de 75%, cuando la producción de semilla certificada en Uruguay entre 2004 y 2014 estuvo entre 83% y 95%, con un promedio de 87% (Peluffo et al., 2016).

El peso de 1000 semillas fue superior a 4 gramos para las dos variedades. La variedad Pantanoso del Sauce al tener un mayor peso de 1000 semillas que Vicky, generaría mejores resultados en estados de plántula, como se pudo ver en los diferentes ensayos. Junto al mayor peso de semillas, se plantea la hipótesis de mayor superficie de contacto de las semillas con las esporas de los hongos, mayor chance de sobrevivencia de las mismas. En un relevamiento de cultivos semilleros en 2005 y 2006, González et al. (2011) encontraron que la germinación y el peso de 1000 semillas estuvo en valores similares a los obtenidos en este trabajo en 2005, pero que en 2006 la germinación fue menor al mínimo exigido, y que el peso de 1000 semillas estuvo entre 2,7 y 3,3 gramos. El mayor peso de las semillas generalmente se asocia a un mejor estado inicial de las plántulas. En ese sentido, se esperaba que tuviera Pantanoso del Sauce una mejor performance que fue lo que ocurrió como se analizará en los siguientes ítems.

5.1 COMPORTAMIENTO DE PATÓGENOS Y CONTROLADORES BIOLÓGICOS

En los objetivos de este trabajo se planteaba evaluar si los hongos controladores generaban un control sobre *Fusarium oxysporum* y *Botrytis squamosa*. Entonces, para ver si era correcta esta hipótesis, se realizó el experimento de cultivos duales en placas, y el biotest de *Fusarium* durante la germinación en arena estéril. Antes de continuar, quiero aclarar que se generó una confusión con las cepas de *Fusarium sp.* donde el objetivo era evaluar *Fusarium oxysporum*, pero en principio se trabajó con la cepa UR01 *Fusarium proliferatum* (Verkleij, 2026), que es un patógeno tanto de la cebolla como del ajo, que pueden aparecer en condiciones a campo, pero a modo de acción se comportan similares ambas especies, lo que permitió hacer una evaluación de cómo se comportan los diferentes controladores biológicos frente a diferente agresividad de un mismo grupo de patógenos (Galván et al., 2008; Gálvez & Palmero, 2022).

Como ya había sido planteado por Sutton et al. (1997), *Clonostachys rosea* era capaz de realizar control sobre *Botrytis cinerea* en diferentes estructuras de plantas, bajo diferentes condiciones ambientales, ya que es un hongo con varios mecanismos de control. En este trabajo se observó que la cepa de *Clonostachys rhizophaga* utilizada generó un control sobre *Botrytis squamosa* y sobre *Fusarium proliferatum*, dado que en ambos casos hubo diferencias significativas con el control positivo de los patógenos en cuestión. En cambio, si comparamos *C. rhizophaga* con *T. afroharzianum* podemos ver que el efecto del primero fue menor comparado a *Trichoderma*, resultado que posiblemente sea causado por el crecimiento más lento que presenta el género *Clonostachys* como fue planteado en el marco teórico. Un aspecto a mejorar hubiera sido pasar a una evaluación de los cultivos duales a los 10 días en vez de 7 días, para darle mejor tiempo para que se pudieran desarrollar las colonias de *Clonostachys*.

Respecto al comportamiento de *T. afroharzianum* en comparación con los patógenos utilizados, en ambos casos los valores de área de crecimiento de los patógenos fueron menores comparados al crecimiento en el control positivo (sin controlador biológico). Según Abdullah et al. (2021) ya era conocido el efecto de control de *T. harzianum* sobre *F. oxysporum*, donde se había observado que las infecciones del patógeno se habían suprimido por mico parasitismo, antibiosis y competencia tanto por espacio como por nutrientes.

5.2 EFECTO DE *Fusarium sp.* SOBRE SEMILLAS INOCULADAS CON MICROORGANISMOS BENÉFICOS

Como se planteó anteriormente, hubo un error en la elección de las cepas, donde la cepa UR01 corresponde a *F. proliferatum* de origen uruguayo, mientras que posteriormente se utilizó la cepa NL93186 que corresponde a *F. oxysporum* de origen holandés (cepa de referencia colectada en 1925) (Galván et al., 2008).

En primer lugar, los experimentos con las diferentes cepas se hicieron en momentos diferentes, sin cambiar la metodología ajustada, se tomaron las precauciones correspondientes, pero se vio que cuando se pasó de UR01 a NL93186, la pérdida de plantas fue mayor, y por eso se tomó la decisión de bajar la concentración de esporas con las cuales se inoculó la arena estéril, de 10^5 a 10^4 esporas/mL, que es el experimento que se mostró en los resultados.

Como lo reportaron Galeano et al. (2014), la cepa de *F. oxysporum* de origen holandés es más virulenta. En su trabajo, para Pantanoso fue nulo el nacimiento de plántulas cuando se inoculó con este patógeno, pero con inoculación luego de la emergencia de las plántulas se comportó como resistente, por lo que los autores concluyen el desarrollo de resistencia con la edad de la plántula. En este trabajo, la variedad Vicky fue más sensible en comparación con Pantanoso a la inoculación con *F. proliferatum*, y como la inoculación fue al momento de la siembra la mayoría de las plántulas murieron.

Cuando observamos el efecto de la inoculación de semilla con los biocontroladores, podemos ver que el efecto de la inoculación hizo que las plantas normales fueran mayores que en el control tanto en el caso de *T. afroharzianum* como en el de *C. rhizophaga*, aunque sin diferencias significativas con el control no inoculado. Pero cuando en el sistema estuvo el agregado de *Fusarium sp.*, ambos hongos benéficos, tanto en el peso como en el número de plantas normales bajaron su performance comparado al control no inoculado con el patógeno. Este resultado era esperable, encontrar una disminución en los niveles de plantas normales y sus pesos, pero tratando de mantener los niveles, ya que los hongos benéficos tienen la capacidad de estimular el crecimiento vegetal. Guédez et al. (2012) evaluaron una colección de *Trichoderma sp.* en cultivos duales con tres patógenos de tomate incluyendo *Fusarium oxysporum*. También comprobaron el efecto de control por competencia, micoparasitismo y antibiosis en cepas específicas.

5.3 VIABILIDAD EN EL TIEMPO DE LA INOCULACIÓN DE LA SEMILLA DE CEBOLLA

El objetivo de este ensayo era evaluar de manera práctica cuál era la combinación de días post inoculación y conservación para tener parámetros para que el productor o empresa que use esta técnica tenga las precauciones necesarias, para que la semilla llegue en las mejores condiciones posibles de esporas viables.

Se puede observar que la combinación de la genética, el controlador biológico, conservación y tiempo post inoculación son importantes. En primer lugar, como se vio la genética condicionó el peso de la semilla, lo que implica que semillas con más peso son de mayor tamaño, en definitiva, como Pantanoso tenía mayor peso, mayor superficie donde se podían quedar las esporas adheridas, donde la hipótesis recae en que al tener mayor superficie la cantidad de esporas sería un porcentaje mayor que en Vicky. Las semillas de las dos variedades recibieron una esterilización superficial, y posteriormente se inocularon ambas con la misma suspensión de esporas, una suspensión con aditivos y otra sin aditivos. Sin embargo, se observaron diferencias significativas entre variedades, lo cual fue inesperado.

El controlador biológico tuvo diferencias, ya que se vio que hubo un mejor efecto con *T. afroharzianum* en la proporción de semillas infectadas, pero *C. rhizophaga* también se mantuvo viable a lo largo de las dos semanas de experimento. Respecto al tipo de conservación, en principio se pensaba que la conservación en heladera (alrededor de 4°C) era mejor que en ambiente (alrededor de 14°C), pero la diferencia observada no fue significativa. Ambas lograron una buena conservación, siendo para *T. afroharzianum* indiferentes, pero para *C. rhizophaga* en heladera fue un poco mejor, pero con poca significancia. Y teniendo en cuenta el tiempo post inoculación el ideal son 7 días, ya que tiende a disminuir la viabilidad a los 14 días.

Respecto al agregado de aditivos, los resultados no fueron los esperados, prolongar la viabilidad de las esporas por un efecto de encapsulado (Olivera, 2023). Sin embargo, se debe a que los aditivos utilizados no se encontraban en condiciones de esterilidad, entonces al favorecer las condiciones de crecimiento de los hongos, también se generaron colonias de otros hongos y microorganismos, que probablemente en el sistema de almácigo no estén presentes o se mantengan en competencia o inhibición con microorganismos del suelo, pero que a nivel experimental si fueron favorecidos, encontrando su presencia en placa de Petri.

Queda pendiente, buscar la forma de evaluar la viabilidad de los hongos de interés en un sistema de almacigo, a campo, o encontrar algún método de esterilización de los aditivos sin modificar la química de los compuestos, para ver el efecto propiamente. Olivera (2023) concluyó que el encapsulado con aditivos era una técnica indispensable para la formulación de un producto en polvo mediante secado en un *spay dryer*. En este caso, los aditivos aumentaron el porcentaje de germinación y su viabilidad en el tiempo durante semanas (Olivera, 2023).

5.4. EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE SEMILLAS EN EL CRECIMIENTO VEGETAL

En este ensayo se evaluó como se comportaban las diferentes inoculaciones de semilla sobre el crecimiento vegetal. Según Abdullah et al. (2021) el género *Trichoderma sp.* tiene metabolitos secundarios que actúan como promotores de crecimiento. Sin embargo, no se reporta si el género *Clonostachys sp.* posee efectos promotores del crecimiento vegetal. Por esta razón, se probó la inoculación de semilla en prevención a las enfermedades con la inoculación de semillas y con aplicaciones foliares con los dos hongos benéficos para ver si había un mayor o menor impacto.

Lo que se observó en este ensayo fue que, en general, a mayor peso de plantas, mayor era el peso de las respectivas partes (hoja y bulbillito más raíz), además que el diámetro del bulbillito fue menor a mayor peso de la planta. La aplicación foliar suplementaria a las inoculaciones de semillas, en general, no tuvieron un efecto en la promoción de mayor peso, pero si se vio que no hubo incidencia general de *Botrytis squamosa*. Ya que se consideró en el planteó del experimento, una siembra de 2 gramos/m², cuando en un almacigo comercial se siembran 4 gramos/m². Entonces, haber bajado la densidad hizo favorecer la ventilación y que la humedad relativa fue menor que en un almacigo comercial, siendo en este trabajo un ambiente desfavorable para esta enfermedad. Por los datos brindados por el personal del Centro Regional Sur, los almacigos ubicados al lado, recibieron aplicación química para esta enfermedad, porque las condiciones para la infección y síntomas sí se generaron.

Para considerar en este ensayo a futuro, sería un ajuste mejor de la densidad de siembra, para hacer una comparación más fehaciente, junto con las aplicaciones foliares de manera preventiva. Además, considerar la evaluación del crecimiento posterior, tanto post trasplante y luego en poscosecha, ya que, si se generó un mejor plantín, y ese mejor crecimiento condiciona positivamente el posicionamiento de la planta en el resto del cultivo.

6. CONCLUSIONES

En este trabajo se comprobó que el agregado de microorganismos benéficos al sistema es beneficioso, tanto ambientalmente por la eliminación de aplicaciones químicas, como para el crecimiento de las plantas de cebolla. La aplicación de bioinsumos hace una mejor utilización de los recursos, cuidando no solo al ambiente sino a los productores y consumidores en general.

La técnica de inoculación de semillas es viable para brindar un servicio y no estar atado a prácticas como cura semillas, que recaen en aplicaciones químicas en su mayoría. En este caso, podemos ver que *T. afroharzianum* en todos los ensayos se comportó mejor que *C. rhizophaga*, pero ambos controladores fueron mejores comparados a los controles sin inocular. Además, la variedad Pantanoso del Sauce se comportó mejor que Vicky, dándonos la idea que la genética nacional sigue bien posicionada, y que las técnicas de protección biológica pueden funcionar en sinergia con la genética ya utilizada ampliamente por los productores.

Esta práctica que promueve el uso integrado de las herramientas biológicas es algo que cada vez se instala con más frecuencia en ciertos rubros de la horticultura, principalmente en cultivos protegidos, y este trabajo logra demostrar que un cultivo a campo tenga efectividad en la herramienta de control biológica.

Se concluye que los controladores biológicos, en este caso hongos, pueden ser usados tanto en inoculaciones de semillas como en aplicaciones foliares, de manera preventiva, junto con un beneficio extra que es la promoción de crecimiento.

A su vez, luego de inoculadas las semillas podemos mantener las esporas viables por siete días con alrededor de 80% de germinación, generando un buen control sobre los patógenos estudiados. Quedaría investigar si tienen efecto sobre otros patógenos agresivos como lo es *Peronospora destructor*, o si tienen efecto positivo en el cultivo post trasplante.

Respecto a los métodos de conservación la utilización de aditivos para el encapsulado es una opción viable, pero en los ensayos utilizados en condiciones de laboratorio no logramos el efecto esperado, ya que al no estar estériles los aditivos, no tuvieron efecto positivo, siendo que hubo una gran contaminación en las placas de Petri. Quedaría hacer un análisis de viabilidad de esporas en suelo o en otras condiciones, por ejemplo, métodos de cultivo diferentes.

En resumen, la utilización de microorganismos benéficos mejora el tamaño y peso de los plantines, teniendo un mejor plantín de la cual partir para el trasplante. Sumado a esto la genética es de importancia, por lo que la suma de efectos hace que el cultivo se encuentre más sano, tratando de utilizar todas las herramientas de un control integrado.

El uso de microorganismos benéficos es una herramienta de fácil utilización e implementación que contribuye a garantizar nuevas formas de manejo y sanidad de los cultivos, y mejorar la calidad del ambiente y de vida a los productores. Apostar a la utilización de estos métodos en cultivos intensivos y a campo es una gran oportunidad, y explotar las diferentes opciones da un amplio panorama de crecimiento en la comercialización y utilización de estos productos.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abdullah, N. S., Doni, F., Mispan, M. S., Saiman, M. Z., Yusuf, Y. M., Oke, M. A., & Suhaimi, N. S. M. (2021). Harnessing *Trichoderma* in agriculture for productivity and sustainability. *Agronomy*, 11(12), Artículo e2559.
<https://doi.org/10.3390/agronomy11122559>
- Adán, A. (2013, 25-26 de abril). *Organismos autóctonos, alóctonos y exóticos en el control biológico de plagas* [Contribución]. Jornadas Técnicas MDF, Valencia.
<https://aefa-agronutrientes.org/wp-content/uploads/control-biologico-de-plagas.pdf>
- Agrios, G. N. (2007). *Fitopatología* (2ª ed.). Limusa.
- Arboleya, J. (2005). Manejo del cultivo. En *Tecnología para la producción de cebolla en la región sur* (pp. 43-75). INIA.
- Caligiore-Gei, P. F., Ciotti, M. L., Valdez, J. G., & Galmarini, C. (2020). Breeding onion for resistance to Fusarium basal rot: Comparison of field selection and artificial inoculation. *Tropical Plant Pathology*, 45(4), 493-498.
<https://doi.org/10.1007/s40858-020-00351-y>
- Campelo, E. & Arboleya, J. (2005). Actualidad de la producción de cebolla en Uruguay. En *Tecnología para la producción de cebolla en la región sur* (pp. 1-15). INIA
<https://ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/8703/1/Bd-88-Campelo-p.1-15.pdf>
- Candelerio, D. J., Cristóbal, A. J., Reyes, R. A., Tun, S. J. M., Gamboa, A. M. M., & Ruíz, S. E. (2015). *Trichoderma* spp. promotoras del crecimiento en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq. y antagonicas contra *Meloidogyne incognita*. *International Journal of Experimental Botany*, 84, 113-119.
<http://www.scielo.org.ar/pdf/phyton/v84n1/v84n1a16.pdf>
- Carisse, O., Levasseur, A., & Van der Heyden, H. (2012). A new risk indicator for botrytis leaf blight of onion caused by *Botrytis squamosa* based on infection efficiency of airborne inoculum. *Plant Pathology*, 61(6), 1154-1164.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02594.x>
- Chaverri, P., Branco-Rocha, F., Jaklitsch, W., Gazis, R., Degenkolb, T., & Samuels, G. J. (2015). Systematics of the *Trichoderma harzianum* species complex and the re-identification of commercial biocontrol strains. *Mycologia*, 107(3), 558-590.
<https://doi.org/10.3852/14-147>
- Cramer, C. S. (2000). Breeding and genetics of *Fusarium* basal rot resistance in onion. *Euphytica*, 115(1), 159-166.

- de Lima Andreato, F., Mian, S., Andrade, G., de Freitas Bueno, A., Ventura, M. U., Marcondes de Almeida, J. E., Fonseca Ivan, E. A., Mosela, M., Simionato, A. S., Robaina, R. R., & Gonçalves, L. S. A. (2025). The current increase and future perspectives of the microbial pesticides market in agriculture: The Brazilian example. *Frontiers in Microbiology*, *16*, Artículo e1574269. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1574269>
- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, *13*(4), 414-430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Dirección General de Análisis Productivo. (2020). *Informe estadístico de la cebolla*. Ministerio de Desarrollo Productivo y Economía Plural. https://siip.produccion.gob.bo/noticias/files/BI_21022020ba0a3_InformeEstadisticoCebolla2020.pdf
- Dogliotti, S., Colnago, P., Galván, G., & Aldabe, L. (2011). *Bases fisiológicas del crecimiento y desarrollo de los principales cultivos hortícolas tomate (Lycopersicon esculentum), papa (Solanum tuberosum) y cebolla (Allium cepa)*. Universidad de la República.
- Don, R. (2009). *Handbook on seedling evaluation* (3rd ed.). ISTA.
- Fatema, U., Broberg, A., Jensen, D. F., Karlsson, M., & Dubey, M. (2018). Functional analysis of polyketide synthase genes in the biocontrol fungus *Clonostachys rosea*. *Scientific Reports*, *8*, Artículo e15009. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33391-1>
- Galeano, P., González, P. H., Franco Fraguas, L., & Galván, G. A. (2014). Age-related resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. cepae and associated enzymatic changes in seedlings of *Allium cepa* and *A. fistulosum*. *Tropical Plant Pathology*, *39*(5), 374-383.
- Galván, G., González, P. H., & Reggio, A. (2004). Onion leaf blight caused by *Botrytis squamosa* in Uruguay and the differential response of local cultivars. *Allium Improvement Newsletter*, *13*, 51-54.

- Galván, G. A., Koning-Boucoiran, C. F. S., Koopman, W. J. M., Burger-Meijer, K., González, P. H., Waalwijk, C., Kik, C., & Scholten, O. E. (2008). Genetic variation among *Fusarium* isolates from onion and resistance to *Fusarium* basal rot in related *Allium* species. *European Journal of Plant Pathology*, 121(4), 499-512.
- Gálvez, L., & Palmero, F. (2022). *Fusarium* dry rot of garlic bulbs caused by *Fusarium proliferatum*: A review. *Horticulturae*, 8(7), Artículo e628. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8070628>
- Garbi, M., Carletti, S., Sillon, C., & Vita, F. (2016). Respuesta de plántulas de lechuga mantecosa (*Lactuca sativa* L.) a la inoculación con una formulación compuesta por tres cepas de *Azospirillum brasilense*. *Horticultura Argentina*, 35(86), 19-28. <https://www.horticulturaar.com.ar/es/articulos/respuesta-de-plantulas-de-lechuga-mantecosa-a-la-inoculacion-con-una-formulacion-compuesta-por-tres-cepas-de-azospirillum-brasilense.html>
- González, P. H., Colnago, P., Peluffo, S., González Idiarte, H., Zipitría, J., & Galván, G. A. (2011). Quantitative studies on downy mildew (*Peronospora destructor* Berk. Casp.) affecting onion seed production in southern Uruguay. *European Journal of Plant Pathology*, 129(2), 303-314.
- González Barrios, M. (2019). *Evaluación de cepas de Trichoderma spp. para el control de la mufa por Sclerotium en morrón (Capsicum annuum L.)* [Trabajo final de grado]. Universidad de la República.
- Gordillo-Delgado, F., Zuluaga-Acosta, J., & Marín-Gallego, B. J. (2019). Inoculación de nanopartículas de TiO₂-Ag en semillas de espinaca. *Informador Técnico*, 83(1), 76-85.
- Guédez, C., Cañizalez, L., Castillo, C., & Olivar, R. (2012). Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32(1), 44-49.
- Guédez, C., Castillo, C., Cañizales, L., & Olivar, R. (2009). Control biológico: Una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 7(13), 50-74.
- Harding, E. A., Karbasi, A., Fernie, A. R., & Bulut, M. (2026). Domestication and genome evolution in *Allium* crops: From hybrid origins to breeding perspectives. *iScience*, 29(3), Artículo e114922. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2026.114922>

- Harman, G. E. (2000). Mythos and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derive from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, 84(4), 377-393. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.4.377>
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14-21. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002
- Instituto Nacional de Semillas. (2013). *Cebolla: Estándar específico*. <https://www.inase.uy/Files/Docs/0ADEA2D475DAF7F8.pdf>
- International Seed Testing Association (2010). *International rules for seed testing* (Vol. 1).
- Lodeiro, A. (2015). Interrogantes en la tecnología de la inoculación de semillas de soja con *Bradyrhizobium* spp. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(3), 261-273. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.06.006>
- Lopes, F. A. C., Steindorff, A. S., Geraldine, A. M., Brandão, R. S., Monteiro, V. N., Júnior, M. L., Coelho, A. S. G., Ulhoa, C. J., & Silva, R. N. (2012). Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Fungal Biology*, 116(7), 815-824. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2012.04.015>
- Maeso, D., Campelo, E. & Arboleya, J. (2012). Sistemas de pronóstico para el manejo de enfermedades de follaje en cebolla en la zona sur de Uruguay. *Revista INIA*, (30), 43-47. <https://ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2126/1/18429091012113724.pdf>
- Mello, M., Ávila, Z. R., Minaré Braúna, L., Pádua, R. R., & Gomes, D. (2007). Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Fitosanidad*, 11(1), 3-9. <https://www.fitosanidad.edicionescervantes.com/index.php/fitosanidad/articloe/view/545>
- Oficina de Estadísticas Agropecuarias. (2024). *Anuario Estadístico Agropecuario 2024*. MGAP. <https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2024/Anuario2024/%20ANUARIO2024.pdf>
- Olivera, M. (2023). *Tecnologías de multiplicación y formulación de cepas de Trichoderma para el desarrollo de un bioinsumo de uso agrícola* [Tesis de Maestría]. Universidad de la República.


- Ongena, M., Jacques, P., Touré, Y., Destain, J., Jabrane, A., & Thonart, P. (2005). Involvement of fengycin-type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of *Bacillus subtilis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69(1), 29-38.
- Peluffo, S., González Idiarte, H., Galván, G. A. & Hirczak, A. (2016). Production of certified onion seeds in Uruguay: An experience of public-private articulation. *Acta Horticulturae*, 1143, 159-164.
- Punja, Z. K. (2020). First report of *Fusarium proliferatum* causing crown and stem rot, and pith necrosis, in cannabis (*Cannabis sativa* L., marijuana) plants. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 43(2), 236-255.
- Reino, J. L., Guerrero, R. F., Hernández-Galán, R., & Collado, I. (2008). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Reviews*, 7, 89-123. <https://doi.org/10.1007/s11101-006-9032-2>
- Rubio, V., & Fereres, A. (2005). Control Biológico de enfermedades y plagas de los cultivos. En I. Marín Palma, J. L. Sanz Martín & R. Amils Pibemat (Eds.), *Biología y medioambiente* (pp. 215-230). Consejo Superior de Investigaciones Científicas. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/13780/1/46.%20Rubio%20and%20Fereres,%202005.pdf>
- Schroers, H., Samuels, G., Seifert, K., & Garns, W. (1999). Classification of the Mycoparasite *Gliocladium roseum* in *Clonostachys* as *C. rosea*, its relationship to *Bionectria ochroleuca*, and notes on other *Gliocladium*-like fungi. *Mycologia*, 91(2), 365-385.
- Schwartz, H. F., & Mohan, S. K. (Eds.) (2008). *Compendium of onion and garlic diseases and pests* (2nd ed.). APS.
- Sutton, J., Li, D., Peng, G., Yu, H., Zhang, P., & Valdevenito-Sanhueza, R. (1997). *Gliocladium roseum*, a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. *Plant Disease*, 81(4), 316-328.
- Unidad Agroalimentaria Metropolitana. (2025). *Informe técnico: Situación y perspectiva de cebolla*. MGAP. <https://uam.com.uy/wp-content/uploads/2025/08/Cebolla-Observatorio-Granjero-Julio-2025.pdf>
- Valencia, H., Sánchez, J., & Valero, N. (2005). Producción de ácido indolacético por microorganismos solubilizadores de fosfato presentes en la rizósfera de *Espeletia grandiflora* y *Calamagrostis effusa* del Páramo el Granizo. En M. Bonilla (Ed.), *Estrategias adaptativas de plantas de páramo y del bosque altoandino en la cordillera oriental de Colombia* (pp. 177-193). Unibiblos.

- Varela Pardo, A. (2023). *Aislamiento, selección y estudio de cepas de Trichoderma spp. y hongos entomopatógenos nativos para el control de Botrytis cinerea, Sclerotinia sclerotiorum (Helotiales: Sclerotinaceae) y Bemisia tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae) en cultivo de tomate (Solanum lycopersicum)* [Disertación doctoral, Universidad de la Plata]. SEDICI. https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/170950/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Verkleij, G. (2026). *Fungal Biodiversity Centre (CBS) - Fungi strains*. GBif. <https://www.gbif.org/es/dataset/82dc5194-f762-11e1-a439-00145eb45e9a/activity>
- Vicente, C. E., Vilaró, F., Rodríguez, G., Galván, G., González, H., Spina W., Reggio, A., Ibáñez, Pereira, G. F., & González, M. (2010). Cultivares de cebolla obtenidos por el mejoramiento genético nacional. *Revista INIA*, (22), 29-32.
- Vieta Delgado, A. (2020). *Factores de manejo del cultivo que influyen sobre la conservación poscosecha de cebolla en sistemas prediales* [Tesis de maestría]. Universidad de la Republica.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E., Woo, L., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Ruocco, M., Lanzuise, S., Manganiello, G., & Lorito, M. (2014). Trichoderma Secondary Metabolites Active on Plants and Fungal Pathogens. *The Open Mycology Journal*, 8(Suppl. 1), 127-139. https://www.researchgate.net/profile/Francesco-Vinale/publication/264264987_Trichoderma_Secondary_Metabolites_Active_on_Plants_and_Fungal_Pathogens/links/53d6471d0cf228d363ea4b18/Trichoderma-Secondary-Metabolites-Active-on-Plants-and-Fungal-Pathogens.pdf
- Williams, M. E. P., Knox, O. G. G., & Forsyth, L. M. (2025). Biological control agents: The importance for specific and targeted screening techniques to enable their effective and successful implementation. *European Journal of Plant Pathology*, 172, 713-728. <https://doi.org/10.1007/s10658-025-03035-y>

8. ANEXOS

Anexo A

Test de Tukey para la interacción de patógeno, controlador biológico y genética

PATOGENO	CB	GENETICA	emmean	SE	df	lower .CL	upper .CL	. group
Sin UR01	sin	VICKY	nonEst	NA	NA	NA	NA	
Con UR01	CONTROL	VICKY	nonEst	NA	NA	NA	NA	
Sin UR01	sin	PANTANOSO	nonEst	NA	NA	NA	NA	
Con UR01	CONTROL	PANTANOSO	nonEst	NA	NA	NA	NA	
Sin UR01	TRICO48	PANTANOSO	0.824	0.0594	36	0.636	1.011	a
Sin UR01	P43	PANTANOSO	0.768	0.0594	36	0.581	0.956	ab
Sin UR01	CONTROL	PANTANOSO	0.722	0.0594	36	0.534	0.909	ab
Con UR01	P43	PANTANOSO	0.659	0.0594	36	0.471	0.847	ab
Sin UR01	TRICO48	VICKY	0.629	0.0594	36	0.441	0.816	ab
Sin UR01	CONTROL	VICKY	0.617	0.0594	36	0.429	0.804	ab
Con UR01	sin	PANTANOSO	0.606	0.0594	36	0.418	0.793	ab
Con UR01	TRICO48	PANTANOSO	0.596	0.0594	36	0.408	0.783	ab
Sin UR01	P43	VICKY	0.576	0.0594	36	0.388	0.763	ab
Con UR01	P43	VICKY	0.572	0.0594	36	0.384	0.759	ab
Con UR01	 (Ctrl)	VICKY	0.566	0.0594	36	0.379	0.754	ab
Con UR01	sin	VICKY	0.506	0.0594	36	0.319	0.694	b

Nota. UR01: *F. proliferatum*, TR48: *T. afroharzianum*, P43: *C. rhizophaga*

Anexo B

Test de Tukey: interacción genética, controlador biológico, días post inoculación, conservación e inoculación de semilla

GENETICA	CB	tiempo	cons	aditivo	emmean	SE	df	lower.CL	upper.CL	.group
PANTANOSO	TR48	7	amb	no	38.77	3.51	120	26.991	50.5	a
PANTANOSO	TR48	14	amb	no	36.42	3.51	120	24.637	48.2	a
PANTANOSO	P43	7	he1	no	35.49	3.51	120	23.707	47.3	ab
PANTANOSO	P43	0	amb	no	35.41	3.51	120	23.637	47.2	ab
PANTANOSO	TR48	14	he1	no	35.21	3.51	120	23.431	47.0	ab
PANTANOSO	TR48	7	he1	si	35.17	3.51	120	23.392	46.9	ab
PANTANOSO	TR48	0	amb	no	35.17	3.51	120	23.391	46.9	ab
PANTANOSO	TR48	7	he1	no	34.97	3.51	120	23.193	46.7	ab
PANTANOSO	P43	14	he1	no	34.96	3.51	120	23.185	46.7	ab
PANTANOSO	TR48	14	he1	si	31.92	3.51	120	20.142	43.7	abc
PANTANOSO	TR48	0	amb	si	29.67	3.51	120	17.895	41.5	abcd
PANTANOSO	P43	7	amb	no	28.96	3.51	120	17.184	40.7	abcde
PANTANOSO	TR48	7	amb	si	27.09	3.51	120	15.316	38.9	abcdef
VICKY	TR48	14	he1	si	22.18	3.51	120	10.407	34.0	abcdefg
VICKY	TR48	7	amb	si	22.06	3.51	120	10.280	33.8	abcdefg
VICKY	TR48	0	amb	si	21.50	3.51	120	9.720	33.3	abcdefg
VICKY	P43	0	amb	no	20.85	3.51	120	9.073	32.6	abcdefg
PANTANOSO	P43	7	amb	si	20.09	3.51	120	8.311	31.9	abcdefg
VICKY	TR48	7	he1	no	19.12	3.51	120	7.342	30.9	abcdefg
VICKY	TR48	7	he1	si	18.80	3.51	120	7.020	30.6	abcdefg
VICKY	P43	7	he1	si	15.75	3.51	120	3.969	27.5	bcdefg
PANTANOSO	P43	14	he1	si	12.37	3.51	120	0.591	24.1	cdefg
VICKY	TR48	14	he1	no	11.59	3.51	120	-0.185	23.4	defg
VICKY	P43	7	he1	no	11.58	3.51	120	-0.200	23.4	defg
VICKY	P43	14	amb	si	11.42	3.51	120	-0.361	23.2	defg
VICKY	TR48	0	amb	no	11.29	3.51	120	-0.487	23.1	defg
PANTANOSO	P43	0	amb	si	11.06	3.51	120	-0.718	22.8	defg
PANTANOSO	P43	14	amb	no	11.03	3.51	120	-0.748	22.8	defg
VICKY	TR48	14	amb	si	10.70	3.51	120	-1.078	22.5	defg
PANTANOSO	P43	7	he1	si	9.30	3.51	120	-2.475	21.1	efg
VICKY	TR48	7	amb	no	9.27	3.51	120	-2.511	21.0	efg
VICKY	P43	7	amb	si	8.55	3.51	120	-3.228	20.3	fg
VICKY	P43	14	amb	no	7.93	3.51	120	-3.845	19.7	fg
PANTANOSO	TR48	14	amb	si	7.80	3.51	120	-3.981	19.6	fg
VICKY	P43	14	he1	si	7.06	3.51	120	-4.720	18.8	fg
VICKY	P43	7	amb	no	6.26	3.51	120	-5.516	18.0	g
VICKY	P43	14	he1	no	5.93	3.51	120	-5.853	17.7	g
VICKY	TR48	14	amb	no	5.68	3.51	120	-6.100	17.5	g
VICKY	P43	0	amb	si	5.03	3.51	120	-6.750	16.8	g
PANTANOSO	P43	14	amb	si	3.30	3.51	120	-8.475	15.1	g

Nota. TR48: *T. afroharzianum* P43: *C. rhizophaga*.