

EFFECTO DE BIOCONTROLADORES AISLADOS EN FINCAS PRODUCTORAS DE CEBOLLA SOBRE LA PUDRICIÓN BLANCA (*Sclerotium cepivorum*)¹

María del Milagro Granados²*, Amy Wang*

Palabras clave: Esclerocios; torbó; combate biológico; antagonistas; *Trichoderma* spp.; *Clonostachys* spp.; *Beauveria bassiana*.

Keywords: Sclerotia; white rot disease; biological control; antagonism; *Trichoderma* spp.; *Clonostachys* spp.; *Beauveria bassiana*.

Recibido: 05/09/2007

Aceptado: 16/01/08

RESUMEN

Para evaluar el efecto de *Trichoderma* sp., *Clonostachys* spp. y *Beauveria bassiana* sobre la incidencia de la pudrición blanca de la cebolla (*Sclerotium cepivorum*), se realizó un experimento de invernadero. Los aislamientos fueron recuperados de esclerocios colectados en fincas productoras de cebolla, de la zona alta de Cartago, Costa Rica. Plántulas de cebolla fueron sembradas en suelo inoculado con el patógeno (0,06 esclerocios.g⁻¹ de suelo) y se les realizó 3 aplicaciones con los biocontroladores, individualmente o en mezcla. La primera aplicación se realizó a la siembra (230 g.maceta⁻¹ de 3,5 kg). A las 4 y 8 semanas se realizó la segunda y tercera aplicación (500 ml de sustrato.maceta⁻¹, con 5x10⁶ ufc.ml⁻¹). A las 18 semanas, se evaluó la incidencia de la enfermedad. Los resultados indicaron una diferencia (p=0,0117) entre el testigo (sin biocontroladores) y los demás tratamientos. La incidencia de pudrición blanca mostró el siguiente patrón: testigo 46%; *Beauveria bassiana* 17%; *Clonostachys* spp. 8,3 y 7,1%, respectivamente; *Trichoderma* spp. 0%. El análisis de varianza no mostró diferencias (p=0,5883) entre las medias para la longitud foliar. Estos resultados indican que todos los biocontroladores evaluados ejercen algún grado de control sobre la enfermedad, en particular *Trichoderma* spp.

ABSTRACT

Effect of bio-controllers isolated from onion production fields on white rot disease (*Sclerotium cepivorum*). To evaluate the effect of *Trichoderma* sp., *Clonostachys* spp., and *Beauveria bassiana* on white rot disease (*Sclerotium cepivorum*) on onion, a greenhouse experiment was conducted. Isolates used were recovered from sclerotia collected from onion production fields, in the highlands of Cartago, Costa Rica. Onion seedlings were cultivated in 3.5 kg pots with inoculated soil (0.06 sclerotia.g⁻¹ of soil). Individual or mixed bio-controllers were applied at 3 different times: first at potting time (230 g.pot⁻¹), second and third 4 and 8 weeks afterwards (500 ml of substrate.pot⁻¹, with 5x10⁶ cfu.ml⁻¹). Disease incidence was evaluated at 18 weeks. Results showed a p=0.0117 statistical difference between the control treatment (without bio-controllers) and the other treatments. Disease incidence showed the following pattern: control 46%; *Beauveria bassiana* 17%; *Clonostachys* spp. 8.3 and 7.1%, respectively; *Trichoderma* spp. 0%. The ANOVA showed no differences (p=0.5883) among leaf-size values. These results indicate that all bio-controllers evaluated exert some level of disease control, particularly *Trichoderma* spp.

1 Proyecto de investigación VI-813-A4-194.

2 Autor para correspondencia. Correo electrónico: maria.granadosmontero@ucr.ac.cr

* Laboratorio de Fitopatología, Centro de Investigación en Protección de Cultivos, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

La pudrición blanca o torbó es causada por el hongo *Sclerotium cepivorum*, un patógeno específico del género *Allium*. Entre las principales especies comerciales que son afectadas de forma natural se encuentran la cebolla (*Allium cepa* L.) y el ajo (*A. sativum* L.) (Walker 1969, Galli *et al.* 1980). Este hongo pertenece al Orden Mycelia Sterilia (Galli *et al.* 1980) y se reproduce a través de la producción de pequeños esclerocios (0,3 a 0,6 mm de diámetro) que funcionan como propágulos e inóculo (Crowe y Hall 1980, Couch y Kohn 2000).

El hongo puede persistir, con una viabilidad mayor de 90%, hasta por 20 años, en condiciones de campo sin necesidad del hospedero y puede formar esclerocios secundarios, dentro o adyacentes a los esclerocios originales, que influyen fuertemente en su sobrevivencia (Coley-Smith *et al.* 1990).

La pudrición blanca es una de las enfermedades que más pérdidas provoca en el cultivo de cebolla en la zona alta de Cartago. En Costa Rica no se ha cuantificado de forma precisa a cuánto ascienden las pérdidas; sin embargo, algunos productores estiman que puede llegar al 39% de la producción de 1 ciclo de cultivo (Granados 2005).

La posibilidad del combate biológico para el manejo de esta enfermedad ha sido investigada desde 1969 por Ghaffar (citado por Kay y Stewart 1994) y se ha identificado tanto hongos como bacterias con potencial de control. El combate biológico, en este tipo de enfermedades, está orientado a disminuir la densidad de inóculo mediante antagonistas que destruyan los esclerocios o, en algunos casos, que eviten su formación. Así, el objetivo en el ciclo de la enfermedad, cuando se utilizan controladores biológicos, incluye la erradicación de los esclerocios presentes en el suelo antes de sembrar, la supresión o degradación de los esclerocios sobre plantas infectadas y la protección del sistema radical en crecimiento (Cook 1979, Clarkson *et al.* 2002).

Existen informes que describen la capacidad antagonista, tanto de bacterias como de

hongos sobre *Sclerotium cepivorum* y otros hongos que forman esclerocios. Rai y Saxena (1975) encontraron un gran número de hongos colonizando esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum*, tanto *in vitro* como en condiciones de campo; los géneros que presentaron mayor actividad antagonista fueron *Penicillium* y *Aspergillus*.

Ayers y Adams (1981a,b) describen al hongo *Teratosperma oligocladum* como un micoparásito que se encuentra en forma natural en el suelo, que es capaz de invadir y destruir varias especies de hongos que forman esclerocios, entre los que se encuentran *Sclerotinia minor*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotium cepivorum*.

En 1982, Oliveira *et al.* evaluaron la acción antagonista de *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces lilacinus* y *Penicillium* sp. sobre *Sclerotium cepivorum*, y encontraron una alta eficiencia antagonista de los 3 hongos. Mesén (1997), encontró que los hongos *Penicillium italicum*, una especie de *Trichoderma* y bacterias no identificadas fueron capaces de colonizar esclerocios o restos no viables de ellos, provenientes de suelo enmendado, tanto en el campo como en el laboratorio. Por otra parte, Tsigbey y Nutsugah (1999) informan que *Gliocladium catenulatum* se desarrolló naturalmente sobre el micelio de *S. cepivorum* y suprimió por completo su crecimiento; además, colonizó y deterioró los esclerocios.

McLean y Stewart (2000), confirmaron el poder antagonista de los hongos *Chaetomium globosum*, *Coniothyrium minitans*, *Trichoderma harzianum*, *T. koningii* y *T. virens* contra *S. cepivorum* en ensayos de invernadero; mientras que Obregón (2001) informa que *T. harzianum* es un antagonista potencial en el combate de la pudrición blanca en cebolla, ya que presentó una capacidad de invasión de 50 y 75% sobre el patógeno en ensayos *in vitro*. Metcalf y Wilson (2000) mencionan que la cepa Tr5 de *T. koningii* produjo un 40% de supresión de *S. cepivorum* en ensayos de campo.

Para el 2002, Clarkson *et al.* encontraron que los agentes de combate biológico pueden degradar más del 60% de los esclerocios en el suelo y reducir significativamente la pudrición

blanca de la cebolla; aunque no mencionan con claridad los agentes evaluados, indican que 2 de las mejores cepas fueron identificadas como *Trichoderma viride* (L4 y S17A).

Por otro lado, Lane y Bowen (2005) mencionan que, de acuerdo a estudios tanto *in vitro* como *in vivo*, bajo ambientes controlados, existe la posibilidad de utilizar cepas de *Trichoderma* spp. que ocurren naturalmente, para el combate *S. cepivorum* y que estas cepas pueden ser usadas en tratamientos integrados con el fungicida iprodione.

En esta línea, Clarkson *et al.* (2006) probaron tratamientos de *T. viride* con tebuconazole o compost de residuos de cebolla y concluyeron que estas combinaciones aumentaron el control y en algunas ocasiones casi eliminaron la enfermedad. Al respecto, Coventry *et al.* (2006) indican que la cepa S17A de *T. viride*, combinada con compost de hongos comestibles, disminuyó la incidencia de *S. cepivorum* y aumentó el vigor de los bulbos producidos, tanto en ensayos *in vitro* como en el campo.

En Costa Rica existe muy poca información sobre la eficacia de hongos antagonistas a *S. cepivorum* que se encuentran de forma natural en las áreas productoras de cebolla. Existen 2 referencias al respecto, la de Mesén (1997) mencionada anteriormente y la de Granados (2004), quien indica que es posible aislar hongos nativos de la zona alta de Cartago con potencial antagonista *in vitro*; entre los que se encuentran *Gliocladium* spp., *Paecilomyces* sp. y *Trichoderma* spp.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto antagonista sobre *S. cepivorum* de hongos aislados a partir de esclerocios provenientes de la zona alta de Cartago, mediante una prueba en invernadero, para su posible implementación en una estrategia de combate integrada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El ensayo se llevó a cabo entre mayo y setiembre del 2005 en los invernaderos de

la Estación Experimental Carlos Durán, del Instituto de Investigaciones y Transferencia de Tecnología Agropecuaria (INTA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería, ubicada en el distrito Potrero Cerrado de Oreamuno, a una altitud de 2440 msnm. Se empleó suelo natural (andisol) proveniente de la Estación, el cual nunca había sido sembrado con cebolla y al que no se le realizó ningún tratamiento previo.

Las temperaturas máxima y mínima promedio registradas durante el período del experimento fueron de 30°C y 9°C, respectivamente.

Hongos a evaluar

Patógeno

Se utilizó esclerocios de *S. cepivorum* colectados a partir de bulbos enfermos, en una finca ubicada en el distrito Potrero Cerrado de Oreamuno de Cartago, a una altitud de 2440 msnm.

Aislamientos de posibles hongos antagonistas

Se utilizó 4 aislamientos de posibles hongos antagonistas, recuperados en investigaciones previas, a partir de esclerocios colectados en fincas dedicadas a la producción de cebolla, ubicadas en la zona alta de Cartago. Dos de estos aislamientos: *Trichoderma* spp. (T6) y *Clonostachys* sp. antes *Gliocladium* sp., fueron obtenidos a partir de esclerocios provenientes de fincas con baja incidencia de pudrición blanca. El tercer aislamiento, también de *Clonostachys* sp. (Clo2PA), fue encontrado en esclerocios producidos *in vitro* a partir de esclerocios de campo. El cuarto fue un aislamiento de *Beauveria bassiana* (Bea), el cual produjo una fuerte inhibición del crecimiento de *S. cepivorum in vitro* cuando contaminó aislamientos en el laboratorio (datos no presentados).

Tratamientos

Los tratamientos aplicados fueron:

1. Testigo, sin aplicación de ningún antagonista (**Test**)
2. *Beauveria bassiana* (**Bea**)

3. *Clonostachys* sp. (Clo)
4. *Clonostachys* sp. (Clo2PA)
5. *Trichoderma* spp. (T6)
6. *Beauveria bassiana* en mezcla con *Trichoderma* spp. (T6+Bea)
7. *Clonostachys* sp. (cepa 1) en mezcla con *Trichoderma* spp. (T6+Clo)
8. *Clonostachys* sp. (cepa 2) en mezcla con *Trichoderma* spp. (T6+Clo2PA)

Se utilizó potes plásticos, a los que se les adicionó 3,5 kg de suelo natural de la Estación, al cual no se le realizó ningún tratamiento previo, mezclado con granza de arroz e inoculado con esclerocios a razón de 0,06 esclerocios.g⁻¹ de suelo. Luego, se realizó la primera aplicación de los tratamientos con 230 g de inóculo en forma sólida (granos de arroz colonizados con micelio y esporas), el cual se combinó con la mezcla de suelo, granza y esclerocios. Después, se procedió a sembrar 3 plántulas de cebolla por maceta, las cuales fueron producidas en invernadero con suelo estéril.

Para la segunda y tercera aplicación se realizó un “drench” con 500 ml de inóculo líquido (5,0x10⁶ conidios.ml⁻¹) maceta⁻¹ en la semana 4 y 8, respectivamente. Al tratamiento testigo se le aplicó sustrato no colonizado. La prueba se mantuvo en el invernadero por 18 semanas.

Variables a evaluar

A los 18 meses fue determinado el porcentaje de plantas enfermas. También se evaluó la longitud foliar, en vista de que uno de los síntomas de la enfermedad es un retardo en el crecimiento de las plantas.

Diseño experimental y análisis de datos

El experimento fue diseñado como irrestricto al azar, con 5 repeticiones y con diseño grupal de tratamientos.

El análisis de los datos se hizo mediante Análisis de Varianza (ANDEVA) y pruebas de separación de medias (análisis de contrastes ortogonales).

RESULTADOS

Los síntomas que se observó en las plantas mantenidas en invernadero difirieron de los que se observan en cultivos a campo abierto.

En el campo, el primer síntoma coincide con el período de bulbificación y se presenta como un amarillamiento general, continuado por muerte descendente y retardo del crecimiento, que culminan con una pudrición blanda del disco basal del bulbo. Esta área se cubre de un micelio blanco algodonoso que produce cientos de esclerocios negros y esféricos, por lo general, con un diámetro no mayor a 0,6 mm. En el invernadero, se observó el amarillamiento general de las plantas que fueron afectadas, así como el retardo de crecimiento y la presencia del micelio algodonoso; sin embargo, no se registró ninguna planta muerta ni la presencia de esclerocios en los bulbos enfermos.

La distribución espacial de la enfermedad no mostró el patrón de “parches” típico de campo, ya que las plantas de cada tratamiento se ubicaron de acuerdo al proceso de aleatorización exigido en este tipo de diseño experimental.

Incidencia

El tratamiento que produjo la mayor incidencia de pudrición blanca fue el testigo con 46%, seguido del tratamiento de *Beauveria bassiana* (Bea) con 17%. Los tratamientos Clo y Clo2PA dieron porcentajes muy similares 7,1 y 8,3, respectivamente; mientras que en ninguno de los tratamientos con *Trichoderma* sp. (5, 6, 7 y 8) se presentó la enfermedad, como se observa en la figura 1.

Al tratamiento testigo se le aplicó sustrato no colonizado.

Según el análisis de contrastes ortogonales realizado a estos datos, existe diferencia (p=0,0117) entre el tratamiento testigo y el grupo de tratamientos con aplicación de algún antagonista, ya sea solo o en combinación. En conformidad con el mismo análisis, no existe diferencia significativa entre el grupo de tratamientos Bea,

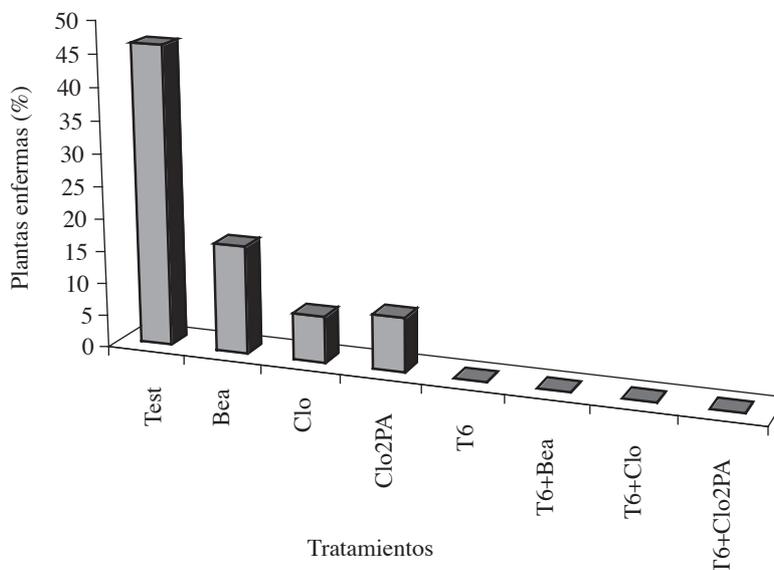


Fig. 1. Incidencia de pudrición blanca en plantas de cebolla después de 18 semanas de crecimiento en invernadero. Potrero Cerrado, Cartago, 2005.

Clo y Clo2PA con el grupo de T6+Bea, T6+Clo y T6+Clo2PA ($p=0,1123$).

Longitud foliar

De acuerdo con el análisis de varianza ($p=0,05$) de los datos obtenidos, no existe diferencia significativa entre las medias de los tratamientos con respecto a la longitud foliar ($p=0,5883$).

Tampoco, se halló diferencia significativa al realizar la prueba de contrastes ortogonales, cuando se comparó el tratamiento testigo con los demás tratamientos ($p=0,7892$).

En la figura 2 se muestra los datos obtenidos para esta variable.

DISCUSIÓN

En este ensayo se garantizó que en el suelo existiera suficiente densidad de inóculo, que asegurara una alta incidencia; además, durante el período del experimento se presentaron condicio-

nes ambientales favorables para el desarrollo de la enfermedad, por lo que fue posible observar porcentajes de incidencia tan altos como un 46% en el tratamiento testigo.

De acuerdo con los resultados obtenidos, todos los posibles hongos antagonistas aplicados combatieron la pudrición blanca de la cebolla bajo condiciones de invernadero (Figura 1), por lo que se pueden catalogar como agentes de biocontrol de esta enfermedad.

En 6 de los 7 tratamientos se registró un promedio de incidencia menor al 10%, lo que indica un buen control de la enfermedad. El mejor de estos biocontroladores fue el aislamiento de *Trichoderma* spp. el cual detuvo el desarrollo de la enfermedad por completo, ya sea aplicado solo o en mezcla con otro de los hongos evaluados.

En estudios previos, como los realizados por Metcalf *et al.* (2004), Clarkson *et al.* (2006) y Coventry *et al.* (2006), se demuestra que aislamientos de *Trichoderma*, en esos casos *konigii* y *viride*, disminuyen la incidencia de *S. cepivorum*.

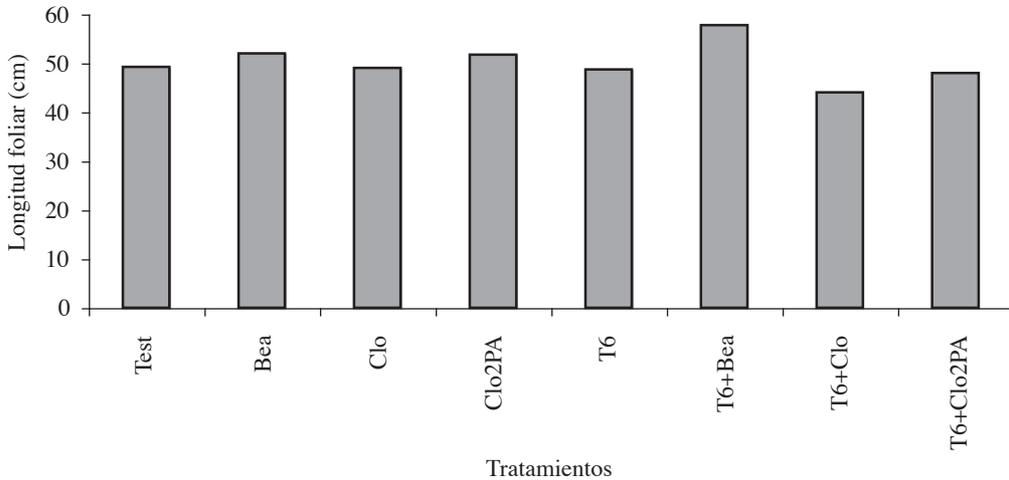


Fig. 2. Longitud foliar promedio (cm) de plantas de cebolla después de 18 semanas de crecimiento en invernadero. Potrero Cerrado, Cartago, 2005.

El primero indica que *T. koningii* produjo 63-79% de control de pudrición blanca, mientras que los segundos mencionan que las cepas S17A y L4 de *T. viride* redujeron, significativamente, la proporción final de plantas con pudrición blanca, de 74% en el testigo a 46% con S17A y 47% con L4. En un segundo experimento, encontraron incidencias de 61% para el testigo contra 29% y 26% para S17A y L4, respectivamente.

Esto hace pensar que la cepa utilizada en este ensayo tiene mayor potencial antagonístico que las utilizadas en los experimentos mencionados, ya que se presentó 0% de enfermedad en las plantas tratadas con este antagonista. Sin embargo, se debe anotar que la especie de *Trichoderma* utilizada en este ensayo no ha sido identificada, aunque se presume que es *harzianum* o *hamatum* o una mezcla de ambas, esto podría ser la razón de que la respuesta sea diferente a la mencionada en la literatura.

Además, la capacidad de combate de un agente biológico depende en gran medida de las condiciones ambientales, el tipo de suelo, la formulación, el patógeno y la relación hospedero-patógeno. La última determina, en gran medida, la

cantidad de enfermedad que puede llegar a presentarse. Así, es posible que las variedades de cebolla utilizadas en los trabajos mencionados, tengan una susceptibilidad diferente a las cultivadas en Costa Rica y que la virulencia del patógeno sea también diferente, por ende la relación entre ambas y el antagonista produce una respuesta particular, de mayor o menor control de la enfermedad.

Metcalf y Wilson (2001), mencionan que *T. koningii* coloniza raíces de cebolla infectadas con torbó, por medio de la producción de enzimas que degradan la quitina y Kaur *et al.* (2005) indican que *T. atroviride* produce enzimas líticas involucradas en el parasitismo de esclerocios. Al respecto, McLean *et al.* (2005) hallaron que la proliferación de *T. atroviride* C52 en la rizosfera fue dependiente de la formulación, y mencionan que en 2 ensayos en invernadero (en investigaciones anteriores) se obtuvo 51-92% de control de la enfermedad, cuando el antagonista fue introducido en formulación de “sustrato sólido” o “pellet”, los cuales mantienen la población del antagonista en una concentración de 10^4 - 10^5 ufc.g⁻¹ de suelo, necesaria para un combate efectivo de la enfermedad.

Estas formulaciones mejoran la eficacia de aplicación al proveer de una base nutricional que mejora la competencia por espacio y nutrimentos en la rizosfera, ya que según Papavizas (1985), las especies de *Trichoderma* son pobres competidoras en suelo natural pero inician un crecimiento competitivo efectivo cuando se añade una fuente de nutrimentos. Adams (1990), indica que se requiere, al menos, una concentración de 10^5 propágulos de *Trichoderma.g*⁻¹ de suelo para ejercer control sobre patógenos de suelo. Al parecer, el hecho de haber realizado la primera aplicación de este ensayo en forma de sustrato sólido, en el área radical, fue un punto importante para lograr el combate observado, ya que la colonización del sistema radical (datos no presentados) desplazó al patógeno. Además, se reforzó con las aplicaciones líquidas de $5,0 \times 10^6$ conidios.ml⁻¹, para tratar de mantener la concentración de los biocontroladores en un ámbito favorable.

Con respecto a la longitud foliar, aunque no fue posible notar diferencias estadísticamente significativas para esta variable (Figura 2), es importante hacer notar que los tratamientos con *B. bassiana* presentan los valores más altos, lo que concuerda con Granados (2004); sin embargo, no se cuenta con referencias que expliquen lo ocurrido.

Desde el punto de vista económico, en el campo se estima que la pérdida de producción podría llegar a ser de alrededor del 40%, lo que equivale a 25 t de cebolla en 2 manzanas¹ de terreno Granados (2005). Si se relaciona los datos citados y los obtenidos en este experimento, un agricultor que trate de combatir de forma convencional la pudrición blanca obtendría alrededor de 39 t de cebolla sana (64 t que es el estimado de producción en 2 manzanas menos 25 t que representa el estimado de pérdidas en

esa área). Se podría especular que si realizara, 2 aplicaciones de *Beauveria bassiana*, tal y como se hizo en este ensayo, teóricamente el agricultor cosecharía 14 t de cebolla más que con el manejo tradicional, ya que habría menor incidencia de la enfermedad y plantas con mayor longitud foliar, lo que se reflejaría en una mayor cantidad y mejor calidad de bulbos. Esto le traería además mayores ingresos económicos. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que son sólo apreciaciones y que los datos reales se obtendrán únicamente al realizar un experimento directamente en el campo, en el cual el cultivo está expuesto a otras condiciones, que predisponen al ataque de otras enfermedades, así como al efecto de factores abióticos perjudiciales.

Es claro que existe efecto antagónico de los hongos evaluados; sin embargo, es de suma importancia realizar otras pruebas para determinar la compatibilidad de los biocontroladores (sobretudo de *Trichoderma* spp.) con las prácticas de manejo convencionales de la enfermedad, en especial, la sensibilidad a los fungicidas utilizados. Para así establecer, si es posible su implementación como una herramienta viable de combate en el manejo integrado de la pudrición blanca de la cebolla, en la zona alta de Cartago.

LITERATURA CITADA

- ADAMS P.B. 1990. The potencial of mycoparasites for biological control of plant disease. Annu. Rev. Phytopathol. 28:59-72.
- AYERS W.A., ADAMS P.B. 1981a. Mycoparasitism of sclerotial fungi by *Teratosperma oligocladium*. Can. J. Microbiol. 27:886-892.
- AYERS W.A., ADAMS P.B. 1981b. *Sporidesmium sclerotivorum*: distribution and function in natural biological control of sclerotial fungi. Phytopathology 71:90-93.
- CLARKSON J.P., PAYNE T., MEAD A., WHIPPS J.M. 2002. Selection of fungal biological control agents of *Sclerotium cepivorum* for control of white rot by sclerotial degradation in UK soil. Plant Pathology 51:735-745.

1 Usualmente los productores de cebolla usan como unidad de área de siembra la manzana y no la hectárea. Al respecto, Gómez (2002) cita que la unidad mínima económicamente rentable en cebolla es de 7588 m².

- CLARKSON J.P., SCRUBY A., MEAD A., WRIGHT C., SMIYH B., WHIPPS. M. 2006. Integrated control of *Allium* white rot with *Trichoderma viride*, tebuconazole and composted onion waste. *Plant Pathology* 55:375-386.
- COLEY SMITH J.R., MITCHELL C.M., SANSFORD C.E. 1990. Long-term survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and *Stromatinia gladioli*. *Plant Pathology* 39:58-69.
- COOK R.J. 1979. Antagonism and biological control: concluding remarks. *In: Soilborne plant pathogens*. Schippers, B; Gams, W. (eds). New York, Academic. p. 653-657.
- COUCH B.C., KOHN L.M. 2000. Clonal spread of *Sclerotium cepivorum* in onion production with evidence of past recombination events. *Phytopathology* 90:514-521.
- COVENTRY E., NOBLE R., MEAD A., MARTIN F.R., PEREZ J.A., WHIPPS J.M. 2006. *Allium* white rot suppression with composts and *Trichoderma viride* in relation to sclerotia viability. *Phytopathology* 96:1009-1020.
- CROWE F.J., HALL D.H. 1980. Soil temperature and moisture effects on sclerotia germination and infection of onion seedlings by *Sclerotium cepivorum*. *Phytopathology* 70:74-78.
- GALLI F., TORRES DE CARVALHO P.C., TOKESHI H., BALMER E., KIMATI H., NOGUEIRA C.O., LIMA-SALGADO C., KRUGNER T., NOGUEIRA E. FILHO A.B. 1980. Manual de fitopatología: doenças das plantas cultivadas. São Paulo, Editora Agronômica Ceres. Vol II. p. 57-58.
- GOMEZ A. 2002. Análisis económico de la cebolla. Consultado 04 jul. 2002. Disponible en <http://www.mercanet.cnpf.go.cr>.
- GRANADOS M.M. 2004. Aislamiento, identificación y evaluación del efecto antagonista de hongos asociados a esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. causante de la pudrición blanca de la cebolla, en la zona alta de Cartago, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Universidad de Costa Rica San José, Costa Rica. 92 p.
- GRANADOS M.M. 2005. Pudrición blanca de la cebolla: una enfermedad difícil de combatir. *Agronomía Costarricense* 29(2):143-156.
- KAUR J., MUNSHI G.D., SINGH R.S., KOCH E. 2005. Effect of carbon source on production of lytic enzymes by sclerotial parasites *Trichoderma atroviride* y *Coniothyrium minitans*. *J. Phytopathology* 153:274-279.
- KAY S.J., STEWART A. 1994. Evaluation of fungal antagonists for control of onion white rot in soil box trials. *Plant Pathology* 43:371-377.
- LANE S.D., BOWEN N.J. 2005. Revisiting the use of Iprodione and *Trichoderma* in the integrated management of onion white rot. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 38(2):133-138.
- McLEAN K.L., STEWART A. 2000. Application strategies for control of onion white rot by fungal antagonists. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 28:115-122.
- McLEAN K.L., SWAMINATHAN K.L., FRAMPTON C.M., HUNT J.S., RIDGWAY H.J., STEWART A. 2005. Effect of formulation on the rhizosphere competence and biocontrol ability of *Trichoderma atroviride* C52. *Plant Pathology* 54:212-218.
- MESEN R. 1997. Efecto de tres sistemas de labranza y una enmienda sobre la densidad de inóculo de *Sclerotium cepivorum* y el manejo de la pudrición blanca de la cebolla en Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Universidad de Costa Rica San José, Costa Rica. 115 p.
- METCALF D.A., WILSON C.R. 2001. The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot-affected onion roots by *Trichoderma koningii*. *Plant Pathology* 50:249-257.
- METCALF D.A., DENNIS J. J.C., WILSON C.R. 2004. Effect of inoculum density of *Sclerotium cepivorum* on the ability of *Trichoderma koningii* to suppress white rot of onion. *Plant Disease* 88:287-291.
- OBREGON M. 2001. Evaluación *in vitro* del poder antagonístico de *Trichoderma harzianum* Rifai con respecto al hongo fitopatógeno *Sclerotium cepivorum* Berkeley causante de la enfermedad "Torbó en cebolla". *In: XLVII Reunión Anual del PCCMCA Resúmenes*. San José, Costa Rica. p.19.

- OLIVEIRA V.L., BELLEI M.M., MENEZES-SOBRINHO J., FERREIRA F.A. 1982. Ação antagônica de *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces lilacinus* e *Penicillium* sp. sobre *Sclerotium cepivorum*, causador da podridão branca do alho. Fitop. Bras. 7(3):531.
- PAPAVIZAS G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*, biology, ecology and potential for biocontrol. Annu. Rev. Phytopathol. 23:23-54.
- RAI J.N., SAXENA V.C. 1975. Sclerotial mycoflora and its role in natural biological control of "white rot" disease. Plant and Soil 43:509-513.
- TSIGBEY F.K., NUTSUGAH S.K. 1999. *Gliocladium catenulatum* in association with *Sclerotium cepivorum* on onion leaves in Ghana. Plant Dis. 83:198.
- WALKER J.C. 1969. Plant pathology. 3 ed. New York, Mc Graw-Hill. p. 345-347.