

Evaluación de aislados nativos de *Trichoderma sp* para el control de hongos fitopatógenos del suelo en tomate

MARTÍNEZ-SCOTT, Marcia Maribel*†

Instituto Tecnológico Superior de Salvatierra

Recibido Enero 18, 2016; Aceptado Marzo 24, 2016

Resumen

Este estudio consistió en la evaluación de 28 aislados de *Trichoderma sp* sobre *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* y *Phymatotrichopsis omnivora* en tomate saladette en dos etapas: laboratorio e invernadero. En la primera se utilizó la técnica de cultivos duales. Durante la segunda etapa se desarrollaron cuatro experimentos, a) Inoculación a la semilla con *Trichoderma* a través de inmersión b) Inoculación al sustrato al momento de la siembra, c) Inoculación de arena de río para siembra directa y, d) Inoculación de cepellones de plántulas de tomate. Se usaron tres testigos: un fungicida comercial, agua destilada adicionando un patógeno y un testigo absoluto con agua destilada. Al segundo día de la evaluación *in vitro*, los patógenos de *R. solani* y *V. dahliae* detuvieron su crecimiento en las confrontaciones de los aislados T20, T21 y T23. El promedio total de inhibición de los cuatro patógenos fue de un 98 %. El primer contacto físico entre el antagonista y el patógeno se dio al cuarto día. Los aislados T2, T8, T9, T20, T21 T22, T23 y T24 iniciaron el proceso de parasitismo y degradaron el micelio del patógeno en un 100% al décimo día. En las pruebas de inoculación de semilla, la efectividad entre *Trichoderma* y el fungicida comercial fue similar. T21, T22 y T27 fueron los aislados sobresalientes en los experimentos de siembra directa e inoculación de plántulas debido al desarrollo radicular y fenológico del cultivo, así también, en las plantas inoculadas con estos aislados no se presentaron síntomas de enfermedad ni presencia del patógeno, la cual se confirmó con siembras de raíz sobre caja Petri con PDA.

Fitopatógenos del suelo, Control biológico, Parasitismo

Citación: MARTÍNEZ-SCOTT, Marcia Maribel. Evaluación de aislados nativos de *Trichoderma sp* para el control de hongos fitopatógenos del suelo en tomate. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2016, 3-6: 32-42.

Abstract

This study involved the evaluation of 28 isolates of *Trichoderma sp* on *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* and *Phymatotrichopsis omnivora* in saladette tomato in two stages: laboratory and greenhouse. The technique dual culture was used in the first. During the second stage four experiments, a) Inoculation developed the seed with *Trichoderma* through immersion b) Inoculating the soil when planting, c) Inoculation of river sand for direct seeding and, d) Inoculation of root balls of tomato seedlings. Three controls were used: a commercial fungicide, distilled water and a pathogen adding an absolute control with distilled water. On the second day of the *in vitro* evaluation pathogens *R. solani* and *V. dahliae* stopped growing in confrontations isolates T20, T21 and T23. The average total inhibition of the four pathogens was 98%. The first physical contact between the antagonist and the pathogen is the fourth day. T2, T8, T9, T20, T21 T22, T23 and T24 isolated started the process of parasitism and demoted the mycelium of the pathogen by 100% on the tenth day. In seed inoculation tests, the effectiveness between *Trichoderma* and commercial fungicide was similar. T21, T22 and T27 were outstanding isolated in experiments tillage and inoculation of seedlings due to root and phenological development of the crop and also in inoculated with these isolates plants no symptoms of disease or presence of the pathogen were presented, the which it was confirmed with root crops on Petri dish with PDA.

Soil borne plant pathogens, Biological control, Parasitism

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: mascott@ites.edu.mx.)

† Investigador contribuyente como primer autor.

Introducción

El reto que tiene la agricultura moderna de satisfacer la demanda alimenticia de los más de 7,000 millones de habitantes en el mundo es inquietante; para alcanzar las producciones deseadas se usan cantidades exorbitantes de plaguicidas, mismos, que a través de los años han contaminado los mantos freáticos, los suelos y han contribuido directamente a la pérdida de la biodiversidad microbiana (FAO, 2013; Olalde y Aguilera, 1998).

A su vez, los sistemas de producción agrícola se ven limitados no solo por esos factores sino por la distribución, reproducción e incidencia de fitopatógenos que causan pérdidas económicas de hasta un 30 % del total de las cosechas en el mundo, afectando no solo a la semilla o a plántulas, sino a cultivos plenamente desarrollados y en poscosecha (Jayalakshmi, *et al.*, 2009).

Los principales problemas de enfermedades y pudriciones radiculares son causados por hongos como *Fusarium* spp (Schlecht), *Pythium* sp (Mart), *Rhizoctonia solani* (Kühn), *Phymatotrichopsis omnívora* (Duggar) Hennebert, *Verticillium dahliae* (Kleb), *Sclerotium rolfsii* (Sacc) y *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid (Stefanova, 2007).

La importancia de éstos patógenos radica en la capacidad de producir estructuras de resistencia tales como esclerocios y clamidosporas, asegurando su supervivencia en el suelo por períodos largos de tiempo que van de 6-10 años en algunas especies, además de presentar gran diversidad de hospedantes, haciendo ineficaz la rotación de cultivos ya que producen enzimas pectolíticas que degradan la lamela media de las células, dificultando su control o erradicación por métodos convencionales (Harman y Shores, 2007; Villegas-Arenas, 2005).

El control biológico a través de hongos del genero *Trichoderma* representa una alternativa sustentable por los diversos mecanismos de acción que ejerce como son competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, resistencia inducida, desactivación de enzimas y, como bioremediador de los suelos agrícolas debido a las características que poseen algunas especies para degradar plaguicidas depositados en el suelo (Mukherjee *et al.*, 2014).

Es por ello que en la actualidad, se busca aislar e identificar nuevas cepas con una o más de esas características para ser usadas en el control de enfermedades fúngicas tanto del suelo como del follaje en sistemas protegidos, y en agricultura intensiva (Michel-Aceves *et al.*, 2013).

Metodología

Los aislados de *Trichoderma* usados en esta investigación fueron obtenidos en suelos de la Comarca Lagunera de Coahuila y Durango en un estudio previo. Los fitopatógenos se aislaron de restos de cosecha de algodón (V. *dahliae*), tomate (*R. solani* y *F. oxysporum*) y nogal (*P. omnívora*).

Las pruebas *in vitro* de antagonismo sobre los fitopatógenos se llevaron a cabo en el laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, a través de la técnica de cultivos duales en discos de 1.0 cm de diámetro con papa-dextrosa-agar (PDA de Sigma), conteniendo a *Trichoderma* de 72 horas de desarrollo y confrontándose individualmente en hemisferios opuestos con cada uno de los cuatro patógenos durante un período de nueve días y con tres repeticiones.

El crecimiento (% de llenado de caja) y diámetro de cada colonia se registró cada 12 horas tanto del biocontrolador como del patógeno (Cherif y Benhamou, 1990). Para los testigos se crecieron los patógenos individualmente por triplicado en caja Petri con PDA para determinar su crecimiento radial, así como cada uno de los aislados de *Trichoderma*, los cuales se incubaron a una temperatura de 25 °C ±1. El porcentaje de antagonismo se obtuvo a partir de los datos registrados de cada aislado, empleándose la fórmula de Avedaño *et al.* (2006).

$$\% \text{ Antagonismo} = \frac{(CA-CP)}{(CTP)} (100) \quad (1)$$

Donde:

CA= Crecimiento radial del antagonista confrontado

CP= Crecimiento radial registrado del patógeno confrontado

CTP= Crecimiento radial del testigo del patógeno.

Se usó un diseño completamente al azar con tres repeticiones, los datos registrados en porcentaje de antagonismo se transformaron con la fórmula: $\text{Arcseno}\sqrt{x}$ para su análisis estadístico con Proc Anova y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

Preparación del inóculo. Cada uno de los 28 aislados del antagonista fue crecido en PDA. Incubándose a una temperatura de 25 °C ±1 durante cinco días, posteriormente el micelio fue raspado y se depositó en matraces con agua destilada estéril. La suspensión se ajustó a una concentración de 10^9 conidios mL^{-1} (Santander *et al.*, 2003).

F. oxysporum, *R. solani* y *V. dahliae* fueron crecidos en medio de cultivo Agar conteniendo 50 ppm de estreptomina (Tsao, 1970). *P. omnivora* fue crecido en PDA ajustando el pH a 4 con ácido clorhídrico e incubándose a una temperatura de 28 °C ±1 durante 15 días. Evaluación de semilla inoculada con *Trichoderma* sp. Se utilizaron semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) variedad Río Grande tipo Saladette, las cuales se inocularon por inmersión durante 60 minutos en la solución correspondiente de los tratamientos (McLean *et al.*, 2005). Los testigos fueron; un fungicida comercial Penta-cloro-nitrobenzeno (PCNB), inoculación de un patógeno y un testigo absoluto de agua destilada estéril. La siembra se realizó en bandejas de 200 cavidades conteniendo una mezcla de Peat moss 70%, humus de lombriz 20% y perlita 10% (sustrato comercial de Environment).

Inoculación de *Trichoderma* sp sobre el sustrato de la charola al momento de la siembra. En cada tratamiento se adicionaron 10 ml del inóculo tanto del aislado como del patógeno al momento de la siembra y posteriormente se realizaron tres aplicaciones más a los 10, 20 y 30 días después de la siembra (dds). La evaluación de las variables se realizó a través de un análisis no paramétrico empleando la prueba de Kruskal-Wallis tanto del experimento anterior como para este (Varese *et al.*, 2003). Inoculación de *Trichoderma* sp sobre arena de río usada como sustrato en siembra directa. Se utilizaron macetas de 0.5 kg de capacidad conteniendo como sustrato arena de río lavada en una solución de hipoclorito de sodio comercial diluida al 3 % y enjuagada por triplicado con agua destilada estéril. Se realizaron tres inoculaciones tanto del patógeno como del antagonista, se adicionaron 20 ml, al momento de la siembra, a la emergencia y a los 40 dds. Se establecieron tres repeticiones para todos los experimentos.

Inoculación de los aislados de *Trichoderma* sobre plántulas de tomate. Se usaron bolsas de polietileno negro de 5 kg conteniendo como sustrato arena de río, la cual se lavó como fue señalado anteriormente. Las plántulas de tomate fueron trasplantadas a los 28 días dds en cada maceta. Se efectuaron tres inoculaciones, la primera sumergiendo el cepellón en la solución de *Trichoderma* durante 15 minutos e inmediatamente se adicionaron 10 ml del inoculo del patógeno. Para la segunda y tercera inoculación se agregaron 10 ml de inoculo del patógeno a los 10 y 20 días después del trasplante.

Se evaluaron 31 tratamientos por cada patógeno usado (*R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae* y *P. omnivora*), quedando de la siguiente manera:

28 Tratamientos de *Trichoderma* + un patógeno.

Un Tratamiento de PCNB + un patógeno.

Un Tratamiento de agua destilada + un patógeno.

Un Testigo absoluto con agua destilada.

Variables evaluadas.

En los tres primeros experimentos se registraron a) Los días a emergencia, el porcentaje de semilla no germinada y germinación, además en los últimos dos experimentos se determinó el peso y longitud de raíz, así como la altura de planta. Para el análisis sobre las variables de plantas en macetas se usó un diseño completamente al azar con tres repeticiones.

Resultados

Confrontaciones duales

La primera característica observada fue el lento crecimiento de las colonias de los patógenos. Durante el segundo día de confrontación, los aislados T20 y T21 inhibieron el desarrollo de *F. oxysporum*, *R. solani* y *V. dahliae* hasta en un 98 % (Gráficos 1, 2 y 3). Sin embargo, el comportamiento de algunos aislados fue diferente, por lo que los dos hongos siguieron creciendo. El aislado T23 presentó un promedio de inhibición 88.2%, registrándose como el menor porcentaje en los cuatro patógenos, no aun así, degradó totalmente el micelio de *R. solani* y *P. omnivora* al décimo día de la confrontación (Gráfico 4). El aislado T27 presentó un antagonismo más eficiente al inhibir en un 91.3 % el crecimiento micelial promedio de los cuatro patógenos, seguido de T26 y T21 con 90.7 % y 90.7 % respectivamente (Gráfico 5). Al cuarto día se produjo el primer contacto físico entre *Trichoderma* y el patógeno, por lo que el antagonista invadió el micelio del confrontado creciendo sobre de él. Los aislados T2, T8, T9, T20, T21 T22, T23 y T24 presentaron micoparasitismo degradando totalmente el micelio de los fitopatógenos. Éstos aislados alcanzaron el 100 % del llenado en caja al noveno y décimo día.

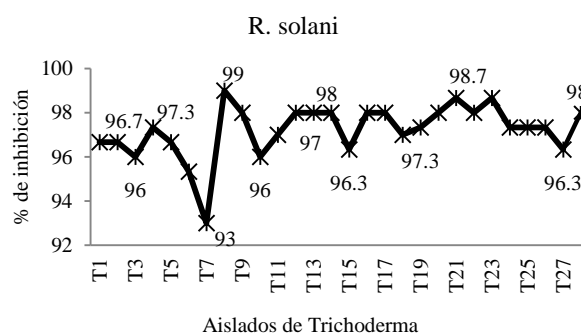


Gráfico 1 Porcentaje de inhibición de los aislados de *Trichoderma* sp sobre *R. solani*

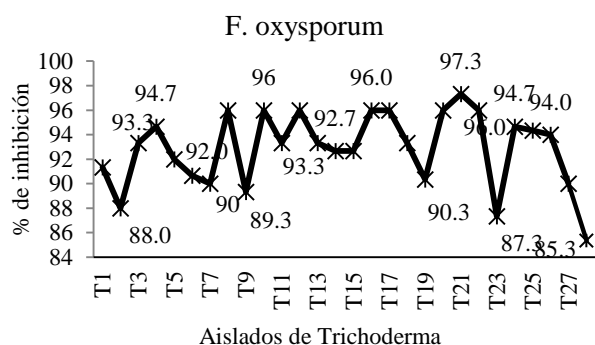


Gráfico 2 Porcentaje de inhibición de los aislados de *Trichoderma sp* sobre *F. oxysporum*

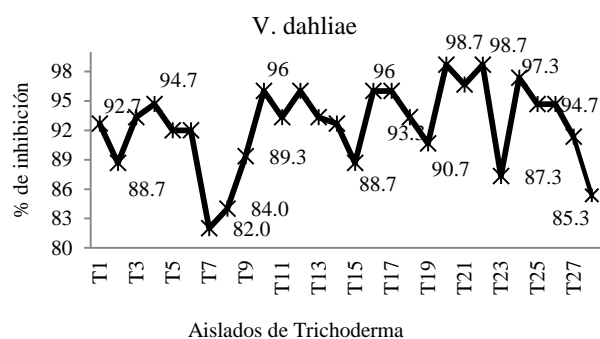


Gráfico 3 Porcentaje de inhibición de los aislados de *Trichoderma sp* sobre *V. dahliae*

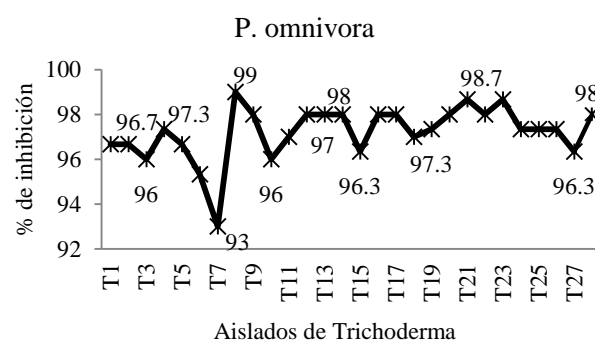


Gráfico 4 Porcentaje de inhibición de los aislados de *Trichoderma sp* sobre *P. omnivora*

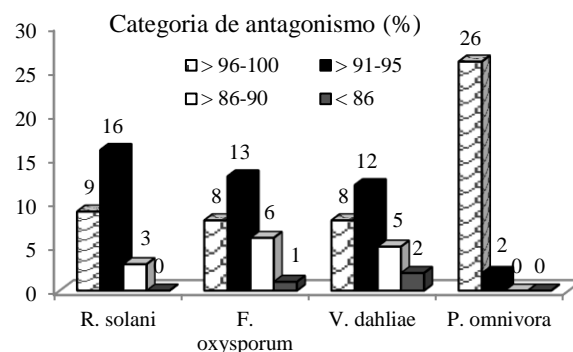


Gráfico 5 Antagonismo registrado por efecto de los aislados de *Trichoderma* sobre los cuatro patógenos

En este estudio mostró que los aislados del antagonista se comportaron de diferentes manera, es decir, algunos inhibieron el crecimiento de los patógenos quizás debido al efecto de antibiosis o a la competencia por el alimento (sustrato) y por el espacio, pero también se observó que T2, T8, T9, T20, T21 T22, T23 y T24 degradaron totalmente el micelio de los patógenos, esto puede ser debido a la secreción de enzimas líticas o al micoparasitismo que ejercieron sobre ellos.

Mukherjee *et al*, (2014), Reza *et al* (2013) y Cervantes-Martínez *et al*, (2010); reportan que el crecimiento del patógeno se ve afectado al contacto con trichoderma y que algunas especies atacan directamente al producir lisis del micelio y esclerocios de hongos, por lo que trichoderma puede disminuir o incrementar su ataque, estableciendo una correlación directa entre el tiempo y la agresividad del antagonista hacia el patógeno, es decir a menor tiempo-mayor agresividad, resultados semejantes que pudieron establecer Gijón-López *et al*, (2010); Páez y Sanabria (2007); Arzate *et al*, (2006) y Benítez *et al*, (2004).

Evaluación de semilla inoculada con *Trichoderma* sp. Los resultados indican que la inoculación tanto del antagonista como con el fungicida comercial PCNB es efectiva para la protección de la misma, no se encontraron diferencias entre el número de semillas podridas; sin embargo, se observó un aumento del sistema radicular en los tratamientos inoculados con el antagonista.

López *et al*, (2010) y Harman *et al*, (2004), demostraron que *Trichoderma* favorece el crecimiento de la planta, el vigor germinativo de la semilla y el desarrollo radicular, resultados similares fueron obtenidos en esta investigación.

Inoculación de *Trichoderma* sp sobre el sustrato de la charola al momento de la siembra. La emergencia fue similar en todos los tratamientos, sin embargo para las variables muerte preemergente, muerte postemergente y plántulas viables se presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) entre los tratamientos con trichoderma y PCNB.

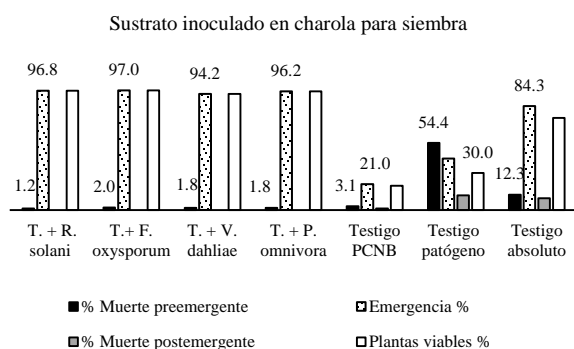


Gráfico 6 Comportamiento promedio de los aislados de *Trichoderma* sobre el sustrato inoculado en charola al momento de la siembra

Los tratamientos más efectivos incluyeron los aislados de *Trichoderma*, en comparación con los testigos.

Para *P. omnívora* el porcentaje de emergencia y muerte post y pre emergente resultaron los más bajos; debido a que éste hongo no está clasificado como fitopatógeno de la semilla; no obstante, se incluyó en el experimento para tener la seguridad de que no fuera a cambiar sus hábitos infectivos por la facilidad de tener un hospedante disponible y susceptible (Gráfico 6). En el Gráfico 7, se observa el comportamiento de los tratamientos (medias) con respecto a las variables de altura de planta, peso y longitud de raíz. El Gráfico 8 muestra los aislados sobresalientes con respecto de las tres variables evaluadas. Los resultados mostraron diferencias entre los aislados de trichoderma y una alta significancia ($P < 0.01$) con respecto de los testigos.

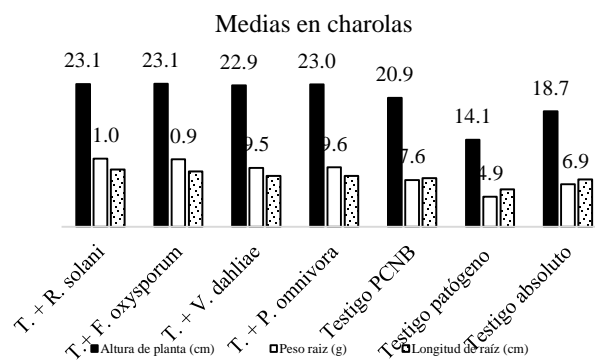


Gráfico 7 Comportamiento promedio de los aislados de *Trichoderma* vs los cuatro patógenos con respecto a las variables de altura de planta, peso y longitud de raíz

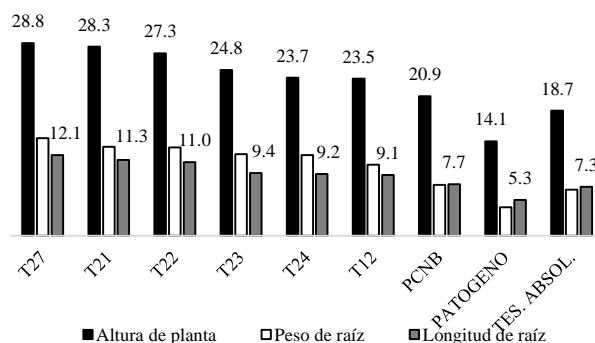


Gráfico 8 Aislados sobresalientes de las variables evaluadas sobre las plantas desarrolladas en charola de siembra

Inoculación de los aislados sobre arena de río como sustrato en siembra directa. Para las variables emergencia, muerte pre y post emergente no se encontraron diferencias entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis, donde la X^2 fue de .80 para muerte preemergente y para muerte postemergente de 0.12.

En la inoculación al sustrato con trichoderma y con PCNB no se encontraron diferencias; ambas son efectivas, por lo que es recomendable usar cualquiera de las dos para protección a la semilla de hongos del suelo. En las variables altura de planta, peso y longitud de la raíz, los aislados T21, T22 y T27 alcanzaron un mayor desarrollo tanto en el área foliar como en el sistema radicular.

El aislado T27 sobresalió en las pruebas de laboratorio manteniendo un rango promedio de inhibición del 91.3% en los cuatro patógenos evaluados y continuo con las mismas características en las pruebas de invernadero. En los Gráficos 9, 10 y 11, se observa el comportamiento de los aislados sobre los cuatro patógenos y su relación en las variables de altura de planta, peso y longitud de raíz.

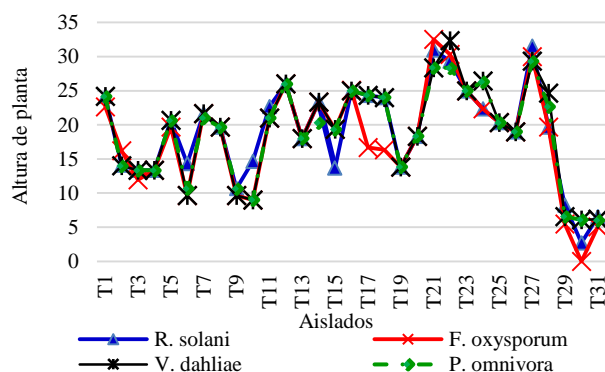


Gráfico 9 Comportamiento de aislados inoculados sobre arena de río

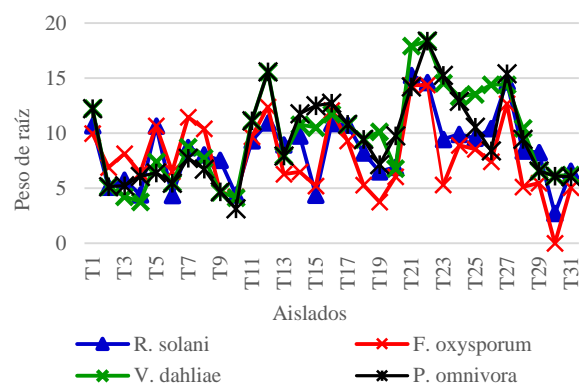


Gráfico 10 Pesos de raíz alcanzados de plantas inoculadas con *Trichoderma* y el patógeno

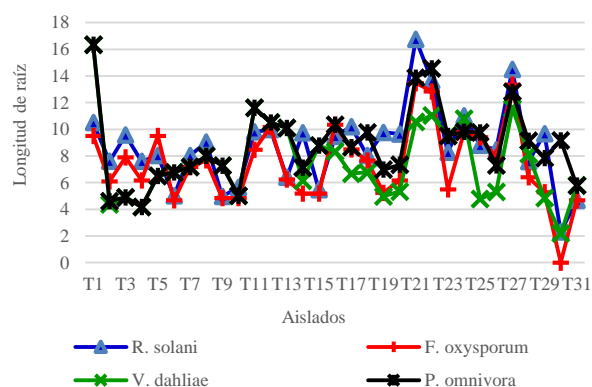


Gráfico 11 Longitud de raíz alcanzada por las plantas inoculadas con *Trichoderma* y el patógeno

Los aislados sobresalientes ($P > 0.01$) en este experimento fueron las plantas inoculadas con T11, T21 y T27 los cuales presentaron un desarrollo radicular y foliar superior con respecto a los testigos, esto quizás pueda ser una respuesta de traducción de señales de las plantas en las cuales estas inducen reacciones básicas de defensa o quizás se deba a un incremento en la capacidad de respuesta rápida de las mismas al entrar en contacto con el inoculo del antagonista ayudando a disminuir la actividad del patógeno.

El aislado T23 no presenta características de agresividad en el medio de cultivo, sin embargo, ejerció un control eficiente en campo. En una investigación realizada por Chowdappa *et al*, (2013) y Mukherjee *et al*, (2014) encontraron que cepas de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum*, además de inducir respuestas de defensa sistémica en plantas, aumenta los niveles de enzimas relacionados con la defensa, incluyendo peroxidasa, polifenol oxidasa y la súper óxido dismutasa en plantas de tomate, así como un desarrollo de raíces y brotes. De acuerdo a los resultados obtenidos, los tratamientos con trichoderma son efectivos para el control biológico de hongos del suelo tanto en inoculación a la semilla como en sustratos, sin embargo, la cantidad del inóculo usado en arena debe estar concentrado en una menor dilución debido a la tasa de infiltración que posee.

Inoculación de *Trichoderma* sobre plántulas de tomate. Los cepellones inoculados con trichoderma y con PCNB presentaron un porcentaje menor de muerte, comparado con los testigos. Las plantas inoculadas con los aislados T21, T22 y T27 fueron superiores con respecto a las variables altura de planta, tamaño y peso de la raíz (Gráficos 12, 13 y 14). El uso tanto de trichoderma como el PCNB presentaron un efecto antifúngico que otorga protección a las plántulas de tomate, sin embargo, el desarrollo radicular en los tratamientos con los aislados del antagonista fue superior en comparación al uso del PCNB que en algunos casos no fue tan eficiente como los tratamientos con algunos de estos aislados. Los aislados T21 y T27 habían sobresalido en las pruebas de antagonismo; no obstante, la T22 presentó un comportamiento promedio al momento de confrontarla con los cuatro fitopatógenos. Estos aislados presentaron el mismo desempeño en el experimento anterior, lo que sugiere que tienen potencial para ser empleadas en el control de hongos fitopatógenos del suelo.

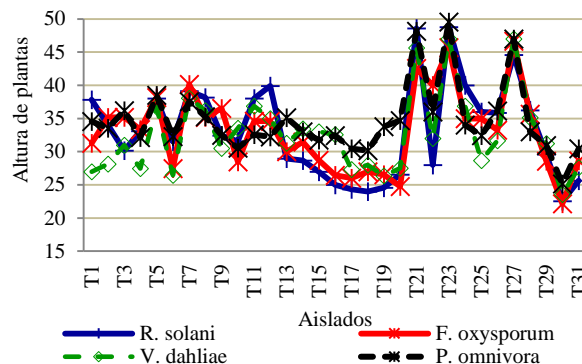


Gráfico 12 Altura de planta de tomate de cepellones inoculados con *Trichoderma*

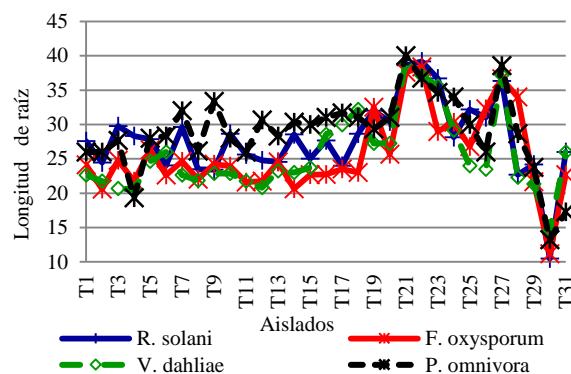


Gráfico 13 Desarrollo radicular de las plantas de tomate inoculadas

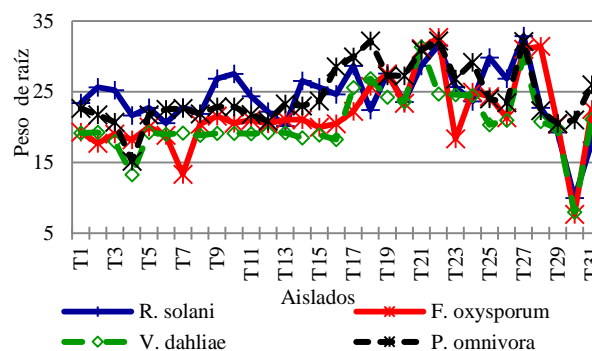


Gráfico 14 Peso de la raíz de plantas de tomate inoculadas

Jiménez *et al.*, (2013) demostraron que al inocular plantas de tomate con trichoderma, estas aumentaba su sistema radicular, altura de la planta y grosor de tallo datos concordantes encontrados en este estudio.

El comportamiento de las plantas inoculadas con trichoderma mostró diferencias entre aislados; por lo que el desarrollo radicular de ellas fue superior en comparación con el fungicida comercial y el testigo absoluto.

Windham (1986) menciona que algunas cepas de trichoderma inducen el desarrollo de las plantas como un regulador de crecimiento y como activador en los mecanismos de defensa de las plantas.

La selectividad del aislado, las condiciones ambientales, los diferentes mecanismos de acción que posee trichoderma, la agresividad y patogenicidad que poseen los diferentes aislados, son características que se deben de tomar en cuenta para la selección y eficiencia de un biocontrolador.

Aun cuando no todos los aislados que sobresalieron en las prueba de antagonismo *in vitro* conservaron sus características de agresividad; algunos de ellos fueron eficientes para controlar a *R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae* y *P. omnívora* ya que no se presentaron síntomas en las raíces de las plántulas, confirmación que se hizo al sembrar un trozo de la misma en PDA.

Agradecimientos

A los Doctores Vicente Hernández Hernández, Francisco Javier Sánchez Ramos, Alberto Flores Olivas y a José Alfredo Samaniego Gaxiola por su aportación y apoyo para el desarrollo de este proyecto. A la Dirección del Instituto Tecnológico Superior de Salvatierra.

Conclusiones

En este experimento se observaron algunos mecanismos de acción que ejercieron los aislados de Trichoderma, como son antibiosis, parasitismo e inducción de resistencia sistémica en plantas. El desarrollo radicular fue superior en los tratamientos con los antagonistas, no obstante el PCNB otorgó protección a la semilla, tanto en la inoculación directa al sustrato, así como las plántulas, T21, T22 y T27 fueron los aislados que sobresalieron por su eficiencia en el control de los cuatro patógenos usados en este experimento, concluyendo que el uso de aislados nativos de trichoderma es una alternativa sustentable y eficiente en el control de los fitopatógenos del suelo tanto para la protección de cultivos en sistemas protegidos como invernaderos.

Referencias

- Arzate Vega, J; Michel Aceves, A. C; Domínguez Márquez, V. M. y Santos Eméstica, O. A. 2006. Antagonismo de Trichoderma spp sobre *Mycosphaella fijiensis* Morele, agente causal de la sigtoka negra del plátano (*Musa* sp) *in vitro* e invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología* 24:98-104.
- Avendaño, C; Arbeláez, G; y Rondón, G. 2006. Control biológico del marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* en frijol *Phaseolus vulgaris* L., mediante la acción combinada de *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma* sp. y *Pseudomonas fluorescens*. *Agronomía Colombiana*. 24: 62-67.
- Benítez, T; Rincon, A. M., Limon, M. C., and Codon, A. C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*. 7:249–260.

Cervantes-Martínez, R; Hernández-Hernández, V; González-Cervantes, G; Favela-Chávez, E., y Alvarez-Reyna, V. 2010. Antagonismo de Cepas Nativas de *Trichoderma* sp aisladas en la Comarca Lagunera contra *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Duggar. *Revista Agraria Nueva época* Vol. 7:1-3.

Cherif, M. and Benhamou, N. (1990). Cytichemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* 80:1406-1414.

Chowdappa P, Kumar, S.P.M., Lakshmi, M.J., and Upreti, K. K. (2013). Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. *Biol Control* 65:109-117.

FAO. 2013. El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo (El). *Sistemas alimentarios para una mejor nutrición*. Cap. 3. *Producción Agrícola para una mejor nutrición*. Pp. 30-42. Roma. [En línea: <http://www.fao.org/docrep/018/i3300s/i3300s.pdf>].

Guigón-López, C; Guerrero-Prieto, V; Vargas-Albores, F., Carvajal-Millán, E., Ávila-Quezada, G; Bravo-Luna, L., Ruocco, M; Lanzuise, S., Woo, Sh., Lorito, M. 2010. Identificación Molecular de Cepas Nativas de *Trichoderma* spp su Tasa de Crecimiento in vitro y Antagonismo contra Hongos Fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28: 87-96.

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews* 2:43-56.

Harman, G. E., and Shores, M. 2007. The mechanisms and applications of symbiotic opportunistic plant symbionts. 131–155 p.

Jayalakshmi, S. K., Raju S, Usha Rani, S., Benagi, V. I., and Sreeramulu, K. 2009. *Trichoderma harzianum* Rifai as a potential source for lytic enzymes and elicitor of defense responses in chickpea (*Cicer arietinum* L.) against wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Aust. J. Crop Sci.* 3:44-52.

López, Y., Pineda, J. B., Hernández, A., y Ulacio, D. 2010. Efecto diferencial de seis aislamientos de *Trichoderma* sobre la severidad de *Rhizoctonia solani*, desarrollo radical y crecimiento de plantas de maíz. *Bioagro* 2: 37-42.

Jiménez, M. A; Asdrubal, A., Arcia, M., Ramis, C., y Faria, Y. 2013. Evaluación de *Trichoderma harzianum* Rifai como inductor de resistencia a la pudrición blanca *Sclerotium rolfsii*. *Sacc de la caráota (Phaseolus vulgaris L.) bajo condiciones controladas*. *J. Selva Andina Res. Soc.* 4: 31-41.

McLean, K. L., Swaminathan, J., Frampton, C. M., Hunt, J. S., Ridgway, H. J., and Stewart, A. 2005. Effect of formulation on the rhizosphere competence and biocontrol ability of *Trichoderma atroviride* C52. *Journal of Plant Pathology* 54:212–218.

Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A., y Alarcón-Cruz, N. 2013. Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuete. *Avances en Investigación Agropecuaria*, Vol. 17:3: 89-107

Mukherjee, K. P., Horwitz, B. A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., and Kenerley, C. M. 2013. Trichoderma Research in the Genome Era. *Annu. Rev. Phytopathol.* Vol. 51:105-29.

Olalde, Portugal, V., Aguilera, Gómez, L. I. (1998). Paez, M. E., y Sanabria de Albarracin, N. 2007. Evaluación de la capacidad antagónica de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ* 24:27-31.

Reza, M., Motlagh, S., Zahara, S. 2013. Evaluation of *Trichoderma* spp., as biological agents in some of plant pathogens. *Annals of Biological Research* 4:173-179.

Santander, C., Montealegre, J. R., y Herrera, R. 2003. Control biológico de *Rhizoctonia solani* en tomate en suelos previamente sometidos a solarización y bromuro de metilo. *Ciencia e Investigación Agraria* 30:107-112.

Stefanova, M. 2007. Introducción y eficacia técnica del biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* spp en Cuba. *Fitosanidad* 11:75.

Tsao, P. H. 1970. Selective media for isolation of pathogenic fungi. *ARPP.* Vol. 12:157-186.

Varese, G. C., Gonthier, P., and Nicolotti, G. 2003. Long-term effects on other fungi are treatments in the fight against. *Mycologia* 95: 379–387.

Villegas-Arenas, M. A. 2005. *Trichoderma* pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. *Fitotecnia* 87:182-189.

Windham, M., Elad Y., and Baker, R. 1986. A mechanism for increased plant grow induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76:518-521.

Vurro, M., and Gressel, J. (eds.), *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management.* Dordrecht, Netherlands. 374 p.