

ARTÍCULO ORIGINAL

Biofumigación con *Brassica juncea* L. Czerniak y *Sinapis alba* L. Acción sobre el crecimiento *in vitro* de *Trichoderma* spp. y *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner

Omar Salvador Perniola^{I*}, Silvia Elena Chorzempa^{II}, Sebastián Staltari^I, Marta Mónica Astiz Gassó^I, Liliana Rosa Galian^{II}, María del Carmen Molina^{I,III}

^IInstituto Fitotécnico de Santa Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Garibaldi 3400, Llavallol, CP 1836, Buenos Aires, Argentina. ^{II}Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ. Ruta N° 4, Km 2, Llavallol, CP 1836, Buenos Aires, Argentina. ^{III}CONICET.

RESUMEN: El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto *in vitro* de la biofumigación con *Brassica juncea* L. Czerniak y *Sinapis alba* L. sobre el crecimiento de *Trichoderma* spp. y *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner. Se trituraron plantas de *B. juncea* y *S. alba* y se colocaron, por separado, en recipientes de plástico en dosis de 5, 15, 25, 35 y 55 g. Sobre el material triturado se apoyaron cajas Petri que contenían medio de cultivo inoculado con *Trichoderma* spp. o *A. brasilense*. Los recipientes de plástico se taparon e incubaron en oscuridad durante siete días, a $25\pm 2^\circ\text{C}$ (*Trichoderma* spp.) y a $31\pm 2^\circ\text{C}$ (*A. brasilense*). Finalizado ese periodo, se midió el diámetro de las colonias de *Trichoderma* spp. y se recontó el número de unidades formadoras de colonias de *A. brasilense*. Los resultados que se obtuvieron, *in vitro*, son los siguientes: i) no se observó efecto fungistático de *B. juncea* y de *S. alba* sobre *Trichoderma* spp. en ninguna de las dosis; ii) *B. juncea* inhibió el crecimiento de las colonias de *A. brasilense* con dosis de 15 g o superiores, con un aumento de la inhibición a medida que se incrementó la dosis del biofumigante; iii) *S. alba* no inhibió el crecimiento de las colonias de *A. brasilense* en ninguna de las dosis. Estos resultados sugieren que la técnica de biocontrol con el hongo antagonista *Trichoderma* spp. sería compatible con la biofumigación con *B. juncea* y *S. alba*. Además, *A. brasilense* solo sería compatible con la biofumigación con *S. alba* y con dosis bajas de *B. juncea*.

Palabras clave: hongo antagonista, rizobacteria (PGPR), brassicáceas, biocontrol.

Biofumigation with *Brassica juncea* L. Czerniak and *Sinapis alba* L. *In vitro* action on the growth of *Trichoderma* spp. and *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner

ABSTRACT: The aim of this work was to evaluate the *in vitro* effect of the biofumigation with *Brassica juncea* L. Czerniak and *Sinapis alba* L. on the growth of *Trichoderma* spp. and *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner. Five doses (5, 15, 25, 35 and 55 g) of triturated plant material from *B. juncea* and *S. alba* were placed separately in plastic containers. Petri dishes with culture medium inoculated with *Trichoderma* spp. or *A. brasilense*, were placed on top of the plant material. The plastic containers were then covered and incubated in darkness for 7 days at $25\pm 2^\circ\text{C}$ (*Trichoderma* spp.) and $31\pm 2^\circ\text{C}$ (*A. brasilense*). After that, the diameter of the colonies of *Trichoderma* spp. was measured, and the number of colony forming units of *A. brasilense* was counted. The results indicated that: i) fungistatic effect of *B. juncea* and *S. alba* was not observed on *Trichoderma* spp. at any doses; ii) *B. juncea* inhibited colony growth of *A. brasilense* at doses of 15 g or higher, with an increasing inhibition as the biofumigant dose increased; iii) *S. alba* did not inhibit colony growth of *A. brasilense* at any doses. These *in vitro* results suggest that the technique of biocontrol with the antagonist fungus *Trichoderma* spp. can be compatible with biofumigation with *B. juncea* and *S. alba*. Also, *A. brasilense* can only be compatible with biofumigation with *S. alba* and with low doses of *B. juncea*.

Key words: antagonistic fungi, rhizobacteria (PGPR), Brassicaceae, biocontrol.

* Autor para la correspondencia. Omar Salvador Perniola.
Correo electrónico: omarperniola@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN

En los programas de manejo integrado de plagas es frecuente combinar diversas tácticas para lograr, ecológica y económicamente, un manejo eficiente de una plaga dentro del agroecosistema. Por ello resulta fundamental conocer la compatibilidad de las tácticas aplicadas para evitar interferencias entre las mismas. Algunas tácticas de manejo, como son la biofumigación, la aplicación de *Trichoderma* spp. y de *Azospirillum* spp. demostraron ser eficientes en el control de numerosos patógenos. Sin embargo, resulta escasa la información concerniente a la compatibilidad entre estas técnicas.

La biofumigación consiste en la supresión de organismos edáficos nocivos, por medio de la liberación de compuestos originados durante la descomposición de especies de brassicáceas (1, 2). Los conocimientos actuales sobre la técnica de biofumigación se refieren, principalmente, al biocontrol de organismos perjudiciales para los cultivos (3, 4, 5), pero es limitada la información relativa a su efecto sobre los microorganismos benéficos del suelo, como *Trichoderma* spp. y *Azospirillum* spp.

La técnica de biofumigación estimula la actividad de los microorganismos descomponedores del suelo, pues son directamente responsables de la degradación del material incorporado (6). La biofumigación produce cambios en la estructura y la función de la comunidad microbiana del suelo que se relacionan, principalmente, con cambios en la disponibilidad del sustrato microbiano, derivados de la modificación del suelo con materiales orgánicos (7). Qiujun *et al.* (8) observaron que la biofumigación con colza incrementó la diversidad bacteriana y disminuyó la diversidad de hongos del suelo.

Varias especies del género *Trichoderma* poseen acción biocontroladora como consecuencia de la elevada tasa de crecimiento, la producción de metabolitos con actividad antibiótica y la manifestación de micoparasitismo ante diversos patógenos (9). El control biológico de *Trichoderma* spp. abarca un amplio rango de patógenos (10, 11, 12).

Dentro del grupo de las bacterias rizosféricas promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), el género *Azospirillum* es el más intensamente estudiado (13). Además de tener un efecto benéfico para el crecimiento de las plantas, numerosas investigaciones mencionan a *Azospirillum* spp. con significativa actividad de control biológico (14, 15).

Los antecedentes del efecto de la biofumigación sobre hongos del género *Trichoderma* son escasos. Kirkegaard y Matthiessen (2) argumentaron que son necesarias bajas concentraciones de isotiocianatos para detener el crecimiento de ciertos patógenos, como son *Sclerotinia* spp. o *Pythium* spp.; pero para afectar a *Trichoderma* spp. se requieren dosis 30 veces superiores. Dandurand *et al.* (16) informaron que la biofumigación con *Brassica napus* L. puede ser incompatible en combinación directa con *Trichoderma harzianum* Rifai. Por su parte, Salem (17) trabajó con paja de arroz enriquecida con *Trichoderma* spp. y observó que la biofumigación con ese sustrato actuó en forma sinérgica con el hongo *Trichoderma* en el control de patógenos de suelo.

Actualmente, no se conocen antecedentes relativos al efecto de la biofumigación sobre las bacterias del género *Azospirillum*. Qiujun *et al.* (18) estudiaron el efecto *in vitro* de la biofumigación con harina de colza sobre la PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* (ex Fukumoto 1943) Priest *et al.* 1987 emend. Wang *et al.* 2008 y observaron que el biofumigante inhibió su crecimiento. Otros investigadores mencionaron la utilización combinada de la biofumigación con *Brassica juncea* L. Czerniak y *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn para el control de tizón del arroz (19, 20, 21).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto *in vitro* de la biofumigación con *B. juncea* y *Sinapis alba* L. sobre el crecimiento de *Trichoderma* spp. y *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner, con la finalidad de determinar la posibilidad de la utilización combinada de estas tácticas de manejo de plagas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal utilizado para la biofumigación fue la parte aérea de plantas de *B. juncea* (mostaza parda) y *S. alba* (mostaza blanca), cultivadas en el campo experimental del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina (IFSC), Llavallol, Argentina. El cultivo se sembró en mayo de 2013; cuando alcanzó el estadio de fin de fructificación (en octubre del mismo año), se cosechó la parte aérea.

El hongo *Trichoderma* spp. se obtuvo del producto comercial Biagro TL® (5 x 10⁸ conidios de *Trichoderma* spp. x ml⁻¹ a la fecha de su elaboración), que consiste en un formulado biológico generado a través de un convenio de vinculación tecnológica entre el IFSC y el laboratorio Biagro S.A., a base de cepas nativas aisladas del campo experimental del IFSC (22).

La bacteria *A. brasilense* se obtuvo de un inoculante comercial con una concentración de $1 \times 10^7 \times \text{ml}^{-1}$ al momento de su elaboración.

Los ensayos realizados se basaron en una modificación de la metodología utilizada por Mayton *et al.* (4) para seleccionar genotipos de *Brassica* spp. que producen compuestos fungicidas volátiles. Los dos tercios superiores de la parte aérea de las plantas de *B. juncea* y *S. alba* se segaron y se llevaron al laboratorio. El material cosechado se lavó con agua destilada estéril, se cortó en trozos pequeños y se trituró en una procesadora durante un minuto aproximadamente. El material triturado se colocó en recipientes de plástico de 900 ml, en dosis de 5, 15, 25, 35 y 55 g.

Previamente, la cepa de *Trichoderma* spp. se multiplicó en medio agar papa glucosado (APG) al 2%, durante siete días a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y en oscuridad. De ese cultivo se tomaron discos de 5 mm de diámetro que se extrajeron de la parte más externa de las colonias y de activo crecimiento micelial; se transfirieron, de a uno, a cajas Petri con medio APG al 2%.

Por otro lado, se obtuvieron los cultivos de *A. brasilense* mediante la técnica de siembra en placa por extensión en superficie, en medio Rojo Congo (RC) (23). Se realizaron diluciones decimales sucesivas hasta 10^{-6} de inoculante comercial en solución fisiológica con 0,01% de Tween 80. Luego se sembraron 100 μl de dilución por caja Petri.

Las cajas Petri con un disco de *Trichoderma* spp. y las inoculadas con *A. brasilense* se colocaron, de a una, dentro de los recipientes que contenían el biofumigante, apoyadas sobre soportes de plástico y elevadas 2 a 3 cm por encima del material vegetal triturado. Los recipientes se cerraron con tapas plásticas. Para el tratamiento control se siguió la misma metodología pero no se utilizó material vegetal biofumigante.

Los recipientes de plástico con sus respectivos contenidos se incubaron en cámara de crecimiento durante siete días, en oscuridad. La temperatura de incubación fue de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ para *Trichoderma* spp. y de $31 \pm 2^\circ\text{C}$ para *A. brasilense*.

Finalizado el periodo de incubación, se midió el diámetro de las colonias de *Trichoderma* spp. y se cuantificó el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *A. brasilense* por caja Petri.

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento. El análisis de los datos de *A. brasilense* se realizó mediante un ANOVA simple y la comparación de medias con la prueba de Tukey. En el caso de la evaluación del efecto de *B. juncea* sobre *A. brasilense*, los

datos no cumplieron los supuestos de normalidad, homocedasticidad y aleatoriedad; por ese motivo se transformaron mediante la raíz cuadrada y se sometieron al mismo análisis estadístico y a una regresión simple. Los datos de *Trichoderma* spp. no registraron varianza, por lo tanto, se aplicó estadística no paramétrica mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Los análisis se efectuaron con el programa Statistica 7.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la biofumigación con *B. juncea* y *S. alba* sobre *Trichoderma* spp.

En todos los tratamientos, el hongo *Trichoderma* spp. colonizó íntegramente las cajas Petri y sus colonias presentaron el mismo diámetro que el control sin biofumigante ($p \text{ value} = 1$; $H = 0$). La biofumigación con *B. juncea* y *S. alba* no inhibió el crecimiento de las colonias de *Trichoderma* spp. en ninguna de las dosis evaluadas.

Estos resultados concuerdan con los de un trabajo previo donde no se observó inhibición del crecimiento *in vitro* de las colonias de *Trichoderma* spp. con dosis de 5 y 10 g del biofumigante *B. juncea* (5).

Resultados similares hallaron otros investigadores que analizaron el efecto de la biofumigación de otras brassicáceas sobre *Trichoderma* spp. En pruebas *in vitro*, Sanchi *et al.* (24) observaron que *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary y *Sclerotinia minor* Jagger fueron más sensibles a los isotiocianatos liberados por *Brassica carinata* Braun que la cepa T39 de *T. harzianum*. Galletti *et al.* (25) analizaron *in vitro* el efecto de la biofumigación con harina de semilla de *B. carinata* sobre 40 aislados de *Trichoderma* spp. y hallaron que fueron menos sensibles a los gases que todos los patógenos ensayados (*Pythium ultimum* Trow, *Rhizoctonia solani* Kühn, *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr.), aunque observaron un efecto fungistático sobre *Trichoderma* spp. a la dosis más alta del biofumigante.

Efecto de la biofumigación con *B. juncea* y *S. alba* sobre *A. brasilense*

En los tratamientos con dosis de 15 g o más de *B. juncea*, la cantidad de UFC de *A. brasilense* fue significativamente inferior que en el control sin biofumigante ($p \text{ value} = 1,9 \times 10^{-14}$) (Tabla 1).

El número de UFC de *A. brasilense* disminuyó a medida que se incrementó la dosis de *B. juncea*. A los datos observados se ajustó un modelo de regresión exponencial, que ofreció un elevado coeficiente de determinación ($R^2 = 0,828$; $S = 0,316$; $p \text{ value} = 3,2 \times 10^{-13}$)

TABLA 1. Efecto de la biofumigación con *B. juncea* y *S. alba* sobre el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *A. brasilense*./ *Effect of biofumigation with B. juncea and S. alba on the number of colony forming units (CFU) of A. brasilense*

Tratamiento	UFC por caja Petri	
	Biofumigación con <i>B. juncea</i> Media ± EE	Biofumigación con <i>S. alba</i> Media ± EE
Control	78,6 a ± 4,8	78,6 a ± 13,4
5 g	55,0 a ± 7,4	64,4 a ± 4,5
15 g	11,0 b ± 3,7	57,6 a ± 7,3
25 g	12,0 b ± 1,6	86,8 a ± 8,5
35 g	2,6 c ± 0,7	79,2 a ± 8,1
55 g	1,6 c ± 0,5	91,6 a ± 10,7

Medias seguidas de letras diferentes, en una misma columna, indican diferencia significativa por la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

y respondió a la ecuación: $Y = 55,679 * e^{-0,0718 * X}$, donde Y representa las UFC de *A. brasilense* por caja Petri y X es la dosis de *B. juncea* (Fig. 1).

La biofumigación con 15 g o más de *B. juncea* inhibió el crecimiento de las colonias de *A. brasilense*, según modelo exponencial negativo; la inhibición fue mayor cuanto mayor fue la dosis del biofumigante (Fig. 1).

Los tratamientos con 25, 35 y 55 g del biofumigante *B. juncea* provocaron, además, alteraciones morfológicas macroscópicas en las colonias, las cuales presentaron forma atípica y coloración rosada con halo mucoso.

Los tratamientos con *S. alba* no registraron diferencias significativas en el número de UFC de *A. brasilense* con respecto al control sin biofumigante ni entre las distintas dosis ($p \text{ value} = 0,1118$) (Tabla 1). La biofumigación con *S. alba* no inhibió el crecimiento de las colonias de *A. brasilense* en las dosis evaluadas.

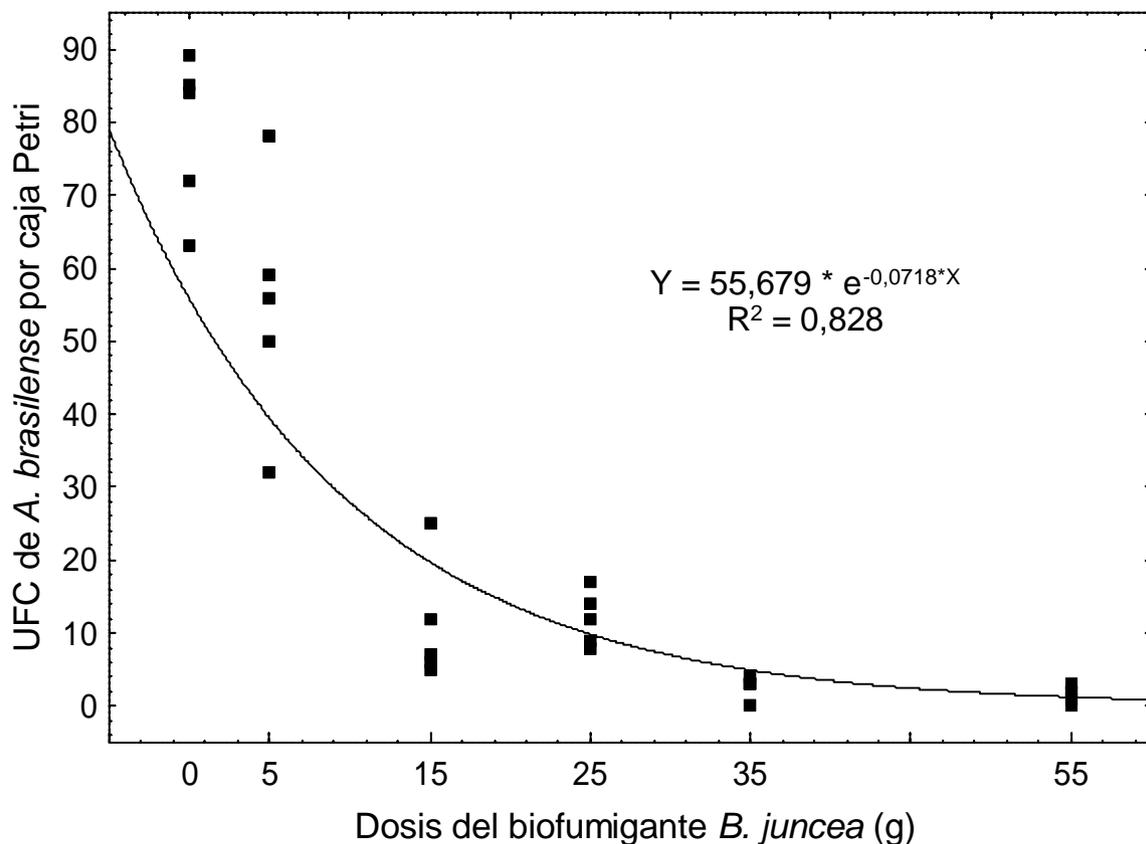


FIGURA 1. Unidades formadoras de colonias (UFC) de *A. brasilense* por caja Petri en respuesta a las dosis crecientes del biofumigante *B. juncea*./ *Colony forming units (CFU) of A. brasilense by Petri dish in response to increasing doses of biofumigant B. juncea.*

Este es el primer reporte sobre el efecto de la biofumigación con *B. juncea* y *S. alba* sobre el crecimiento de la bacteria *A. brasilense*.

CONCLUSIONES

Los resultados *in vitro* sugieren que la técnica de biocontrol con el hongo antagonista *Trichoderma* spp. sería compatible con la biofumigación con *B. juncea* y *S. alba*. En cambio, el biocontrolador *A. brasilense* solo sería compatible con el biofumigante *S. alba* y con dosis bajas de *B. juncea*, ya que con dosis de 15 g o más de *B. juncea* se inhibe significativamente el crecimiento de la bacteria.

Los estudios *in vitro* realizados son la base para la ejecución de los ensayos en campo que permitirán determinar fehacientemente la compatibilidad de estos métodos de control biológico.

REFERENCIAS

1. Kirkegaard JA, Gardner PA, Desmarchelier JM, Angus JF. Biofumigation using *Brassica* species to control pests and diseases in horticulture and agriculture. Proceedings of 9th Australian Research Assembly on *Brassicas*. 5-7 Octubre 1993. Wagga Wagga, Australia. p. 77-82.
2. Kirkegaard JA, Matthiessen JN. Developing and refining the biofumigation concept. *Agroindustria*. 2004;3:233-239.
3. Kirkegaard JA, Wong PTW, Desmarchelier JM. *In vitro* supresion of fungal root pathogens of cereals by *Brassica* tissues. *Plant Pathol*. 1996;45:593-603.
4. Mayton HS, Olivier C, Vaughn SF, Loria R. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* especies with allyl-isothiocyanate production in macerated leaf tissue. *Phytopathology*. 1996; 86:267-271. URL disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/43276659> Correlation of fungicidal activity of Brassica species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue.
5. Perniola OS, Staltari S, Chorzempa SE, Astiz Gassó MM, Molina M del C. Control biológico de *Fusarium graminearum*: utilización de *Trichoderma* spp. y biofumigación con parte aérea de *Brassica juncea*. *Rev Fac Cienc Agrar*. 2014; 46(2):45-56. URL disponible en: http://revista.fca.uncu.edu.ar/images/stories/pdfs/2014-02/Cp04_Perniola.pdf.
6. Sacristán G, Reguera JI, López-Robles J, de Aymerich B. Soil microbial population changes in soil biodisinfection process. En: Trasar-Cepeda C et al. editores. *Soil enzymology in the recycling of organic wastes and environmental restoration*, Environmental science and engineering. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2012. p. 339-350.
7. Omirou M, Rousidou C, Bekris F, Papadopoulou KK, Menkissoglou-Spiroudi U, Ehaliotis C, et al. The impact of biofumigation and chemical fumigation methods on the structure and function of the soil microbial community. *Microbial Ecol*. 2011;61(1):201-213.
8. QiuJun W, Yan M, Hao Y, Zhizhou C. Effect of biofumigation and chemical fumigation on soil microbial community structure and control of pepper *Phytophthora* blight. *World J Microb Biot*. 2014; 30(2):507-518. URL disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/256291021> Effect of biofumigation and chemical fumigation on soil microbial community structure and control of pepper *Phytophthora* blight.
9. Grondona I, Hermosa R, Tejada M, Gomis MD, Mateos PF, Bridge PD et al. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal. *Appl Environ Microb*. 1997;63(8):3189-3198.
10. Matarese F, Sarrocco S, Gruber S, Seidl-Seiboth V, Vannacci G. Biocontrol of *Fusarium* head blight: interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium*. *Microbiology*. 2012; 158:98-106. URL disponible en: <http://mic.sgmjournals.org/content/158/1/98.long>.
11. Shovan LR, Bhuiyan KA, Begum JA, Pervez Z. *In vitro* control of *Colletotrichum dematium* causing anthracnose of soybean by fungicides, plant extracts and *Trichoderma harzianum*. *Int J Sustain Crop Prod*. 2008;3(3):10-17. URL disponible en: <http://cidsbd.org/wp-content/uploads/2014/03/10-17.pdf>.

12. Stefanova M, Sandoval I, Martínez ML, Heredia I, Ariosa MD, Arévalo R. Control de hongos fitopatógenos del suelo en semilleros de tabaco con *Trichoderma harzianum*. Fitosanidad. 2004;8(2):35-38. URL disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/2091/209117836008.pdf>.
13. Bashan Y, de-Bashan LE. Chapter two - How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - A critical assessment. Adv Agron. 2010;108:77-136.
14. Tortora ML, Díaz-Ricci JC, Pedraza RO. *Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*. Arch Microbiol. 2011;193:275-286.
15. Di Barbaro G, González Basso V, Batallán Morales S. *Trichoderma* sp. y *Azospirillum* sp., potenciales agentes de biocontrol de fitopatógenos. Artículo de revisión. Biología en Agronomía. 2014;4(1):177-189. URL disponible en: <http://www.agrariasvirtual.com.ar/fca/rebea/2014-marzo/15.DiBarbaro.Basso.pdf>.
16. Dandurand LM, Mosher RD, Knudsen GR. Combined effects of *Brassica napus* seed meal and *Trichoderma harzianum* on two soilborne plant pathogens. Can J Microbiol. 2000;46(11):1051-1057.
17. Salem MF. Innovative approaches through modified biofumigation in controlling soil-borne pathogens and root-knot nematode. Aspects of Applied Biology. 2014;126:77-81.
18. Qiujun W, Yan M, Guangfei W, Zhiguang G, Di S, Xia A, et al. Integration of biofumigation with antagonistic microorganism can control Phytophthora blight of pepper plants by regulating soil bacterial community structure. Eur J Soil Biol. 2014;61:58-67. URL disponible en: https://www.researchgate.net/publication/259994132_Integration_of_biofumigation_with_antagonistic_microorganism_can_control_Phytophthora_blight_of_pepper_plants_by_regulating_soil_bacterial_community_structure.
19. Zhou XG, Liu G, Kloepper JW, Reddy MS. Use of brassica biofumigation cover crop and plant growth promoting rhizobacteria to manage sheath blight of rice. (Abstr.). Phytopathology. 2012;102(Suppl. 4):S4.144. URL disponible en: <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-102-7-S4.1>.
20. Zhou XG, Liu G. Efficacy of combined use of brassica biofumigant crop and PGPR strain for managing sheath blight in rice, 2012. Plant Disease Management Reports. 2013; 7:FC049.
21. Anders MM, Zhou X, Jia Y, Liu G. Evaluation of brassica cover crop and PGPR strain for suppression of sheath blight of rice in Arkansas, 2012. Plant Disease Management Reports. 2013; 7:FC048.
22. Astiz Gassó MM, Pagliocca R, Varaschin C. Comportamiento del formulado biológico Biagro TL en el manejo integrado de enfermedades. En Actas del 2º Congreso Argentino de Fitopatología; 1-3 Junio 2011; Mar del Plata, Argentina. p. 373.
23. Rodríguez Cáceres EA. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. Appl Env Microb. 1982;44:990-991.
24. Sanchi S, Odorizzi S, Lazzeri L, Marciano P. Effect of *Brassica carinata* seed meal treatment on the *Trichoderma harzianum* T39-*Sclerotinia* species interaction. Acta Hort. (ISHS). 2005;698:287-292.
25. Galletti S, Sala E, Leoni O, Burzi PL, Cerato C. *Trichoderma* spp. tolerance to *Brassica carinata* seed meal for a combined use in biofumigation. Biol Control. 2008;45(3):319-327.

Recibido: 26-10-2015.
Aceptado: 7-3-2016.