

## Antagonismo *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a *Sclerotium rolfsii* Sacc.

### *In vitro* antagonism of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg isolates against *Sclerotium rolfsii* Sacc.

Yanisia Duarte-Leal<sup>1✉</sup>, Alexis Lamz-Piedra<sup>2</sup>, Benedicto Martínez-Coca<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, CP 32 700, Mayabeque, Cuba.

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Mayabeque, Cuba.

**RESUMEN:** El presente trabajo tuvo como objetivo determinar los modos de acción (antibiosis, competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo) de diez cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg (*Ta.*), frente a dos aislados de *Sclerotium rolfsii* Sacc. (*Scl*) procedentes de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). La evaluación del antagonismo *in vitro* se realizó por el método de cultivo dual, a través del cual se determinaron los diferentes modos de acción. La mayoría de las cepas de *Ta.* se ubicaron en el grado 2 de la escala de Bell, con excepción de *Ta.* 17, que mostró grado 5. Los metabolitos producidos por las cepas *Ta.* 28, *Ta.* 13 y *Ta.* 90 presentaron el mayor efecto inhibitorio del crecimiento de *Scl* 5, mientras que para *Scl* 6 fueron las cepas *Ta.* 13, *Ta.* 79, *Ta.* 28, *Ta.* 75, *Ta.* 85 y *Ta.* 90. La mayor competencia por nutrientes se observó con la cepa *Ta.* 28. Los resultados del micoparasitismo mostraron que la mejor cepa fue *Ta.* 90 con tres tipos de interacciones hifales entre ambos hongos, seguido de *Ta.* 13 y *Ta.* 56 con tres y dos tipos de interacciones, respectivamente. Acorde a los modos de acción que poseen las cepas *Ta.* 13, *Ta.* 28 y *Ta.* 90 pueden ser valoradas como posibles candidatas de ingredientes activos de bioplaguicidas para el control de *S. rolfsii* en el cultivo del frijol.

**Palabras clave:** control biológico, interacciones hifales, patógeno de suelo.

**ABSTRACT:** The objective of this work was to determine the modes of action (antibiosis, competition for space and nutrients, and mycoparasitism) of ten strains of *T. asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg (*Ta.*) against two isolates of *S. rolfsii* Sacc. (*Scl*) isolated from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *In vitro* antagonism was assessed by the dual culture method, through which the different modes of action were determined. Most strains of *Ta.* were located in grade 2 of the Bell scale, except *Ta.* 17, which showed grade 5. The metabolites produced by strains *Ta.* 28, *Ta.* 13, and *Ta.* 90 showed the highest inhibitory effect on *Scl* 5 growth, whereas those produced by the strains *Ta.* 13, *Ta.* 79, *Ta.* 28, *Ta.* 75, *Ta.* 85, and *Ta.* 90 did on *Scl* 6. Greater competition for nutrients was observed with the strain *Ta.* 28. Mycoparasitism results showed the best strain was *Ta.* 90 with three types of hyphal interactions between the two fungi, followed by *Ta.* 13 and *Ta.* 56 with three and two types of interactions, respectively. According to the modes of action of the strains *Ta.* 13, *Ta.* 28, and *Ta.* 90, they can be evaluated as possible candidates for active ingredients of biopesticides for the control of *S. rolfsii* in the bean crop.

**Key words:** biological control, hyphal interactions, soil pathogen.

✉ Autor para correspondencia: Yanisia Duarte-Leal. E-mail: [yanisia@censa.edu.cu](mailto:yanisia@censa.edu.cu)

Recibido: 4/5/2017

Aceptado: 28/9/2017

## INTRODUCCIÓN

*Sclerotium rolfsii* Sacc. es un hongo fitopatógeno que causa pudriciones de raíces, tallos, tubérculos y frutos en numerosos cultivos, como son: frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), manzano (*Malus domestica* Borkh.), remolacha (*Beta vulgaris* L.), girasol (*Helianthus annuus* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), soya (*Glycine max* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), pimiento (*Capsicum annuum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.), entre otros (1,2).

En frijol común, este agente fitopatógeno ocasiona la enfermedad conocida como Tizón sureño, que provoca amarillamiento, marchitez, caída de las hojas y finalmente la muerte de la planta. En el cuello de la raíz se observa una lesión necrótica y, sobre los tejidos afectados, un crecimiento micelial blanco donde se forman los esclerocios del hongo, inicialmente blancos y que, posteriormente, se tornan color marrón oscuro (1).

Esta enfermedad causa pérdidas considerables en el frijol. Su control se realiza con el uso de prácticas preventivas, como rotación de cultivos, uso de semillas sanas, preparación del suelo y otras tácticas que incluyen el control biológico y químico. Los productos químicos demuestran ser eficientes inicialmente, pero la enfermedad persiste en el campo debido al poco efecto de estos sobre los esclerocios. Además, son cuestionados por su impacto ambiental, sobre la salud humana y la resistencia que desarrollan los microorganismos, lo cual genera una creciente y justificada preocupación por la contaminación, el deterioro ambiental y el desequilibrio de los ecosistemas (3,4,5).

Uno de los métodos utilizados para disminuir el uso de productos químicos es la aplicación de microorganismos antagonistas. Dentro de estos, uno de los más promisorios para combatir enfermedades fúngicas en las plantas es el género *Trichoderma* con especies y cepas que exhiben versatilidad,

adaptabilidad y fácil manipulación, lo que permite que se utilicen en el manejo de enfermedades causadas por agentes fitopatógenos cuyo hábitat es el suelo, como *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium* y *Sclerotium*, entre otros (6,7,8).

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar los mecanismos de acción de diez cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg (Ta.) frente a dos aislados de *S. rolfsii* (Scl) procedentes de frijol.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó entre enero y abril de 2017, en el Laboratorio de Micología Vegetal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), municipio San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

### Evaluación de los diferentes modos de acción de *T. asperellum* frente a *S. rolfsii*

El trabajo se desarrolló con diez cepas de *T. asperellum* denominados Ta. 1, Ta. 13, Ta. 17, Ta. 28, Ta. 56, Ta. 75, Ta. 78, Ta. 79, Ta. 85 y Ta. 90 (9) y dos aislamientos de *S. rolfsii* (Scl 5 y Scl 6), obtenidos de raíces de plantas de frijol enfermas, provenientes del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Mayabeque, Cuba. Todos los hongos utilizados pertenecen a la Colección de cultivos microbianos del Laboratorio de Micología Vegetal del CENSA.

Se evaluaron los modos de acción (competencia por espacio, micoparasitismo y antibiosis) de las cepas de *T. asperellum* frente a *S. rolfsii*, utilizando el método de cultivo dual (CD) descrito por Martínez y Solano (10).

Los antagonistas se mantuvieron en medio de cultivo Agar Malta (Biocen) por tres días y los del agente fitopatógeno (Scl 5 y Scl 6) en Papa Dextrosa Agar (PDA) (Biocen) por cinco días; ambos se incubaron a una temperatura de  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$  y oscuridad constante. El CD se realizó en placas Petri de 90 mm de diámetro que contenían 15 ml del medio de cultivo PDA.

Se incluyó un testigo del agente fitopatógeno sin el antagonista. Todos los

hongos, en los diferentes tratamientos, se incubaron a  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$  y en oscuridad constante.

### Antibiosis

La antibiosis se evaluó por el crecimiento de *S. rolfsii* en el CD antes del momento de contacto entre ambos hongos (*T. asperellum*-*S. rolfsii*) a las 48 h, respecto al testigo (*S. rolfsii*).

### Competencia por espacio

El experimento se desarrolló y se evaluó según lo referido por Reyes *et al.* (7). Las evaluaciones se llevaron a cabo hasta los siete días y la clasificación como antagonista de los aislamientos se realizó según la escala descrita por Bell *et al.* (11). Se determinó el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) según la fórmula:

$$\text{PICR} = \frac{r1 - r2}{r1} * 100$$

#### donde:

*r1* - Crecimiento radial de la colonia en el control.

*r2* - Crecimiento radial del aislamiento patógeno enfrentado al antagonista.

### Micoparasitismo

Para evaluar los tipos de interacciones hifales (enrollamiento, penetración, vacuolización, granulación y lisis), se tomaron tres muestras de la zona de interacción entre ambos hongos por cada réplica (placa Petri, tres en total) y se depositaron en portaobjetos sobre una gota de lactofenol. Las observaciones se realizaron con microscopio óptico modelo N-800M (aumento de 400x). Se evaluaron nueve réplicas por tratamiento (cepas de *T. asperellum*).

Los datos obtenidos se procesaron por un Análisis de Varianza (ANOVA), y las medias se compararon según la Dócima de Rangos Múltiples de Duncan para  $p \leq 0,05$ , utilizando el paquete estadístico INFOSAT Profesional ver. 2.1.

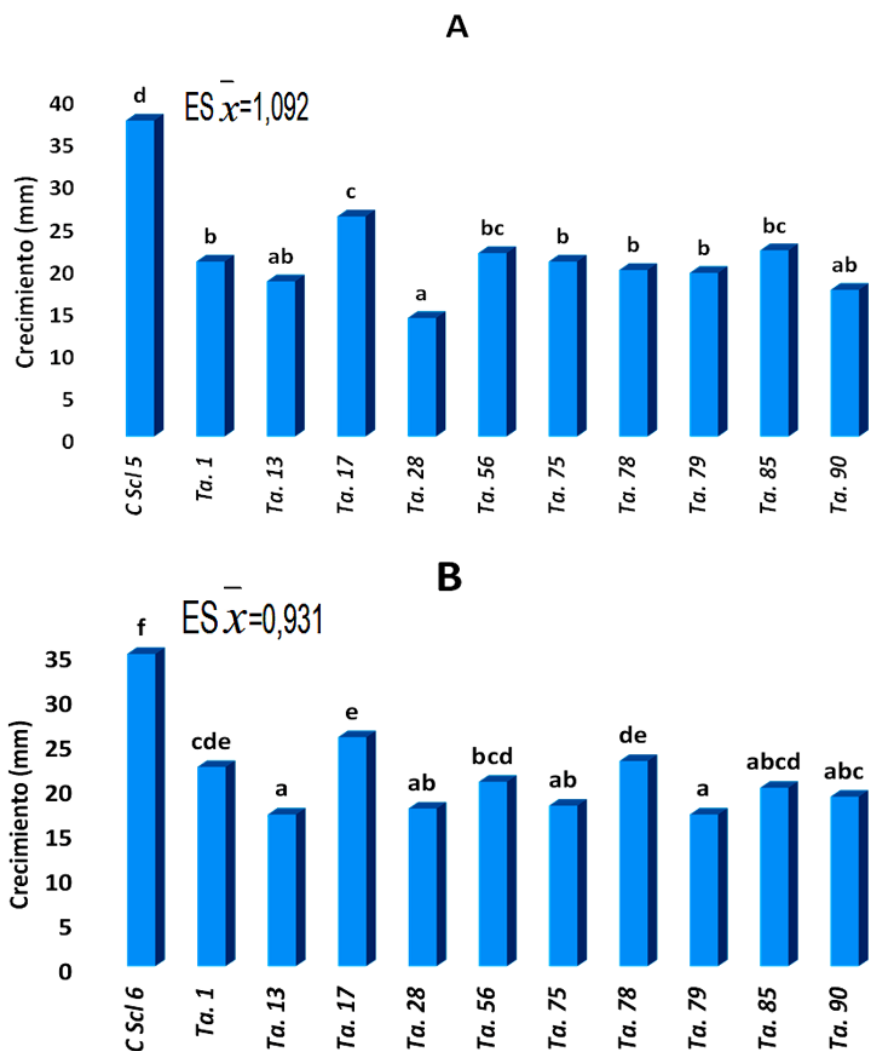
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Antibiosis

Las cepas de *T. asperellum* evaluadas inhibieron, significativamente, el crecimiento del agente fitopatógeno desde las 48 h, en comparación con el testigo, aunque este efecto se observó, más marcado, a las 72 h (Fig. 1). En el enfrentamiento con el aislado *Scl.* 5, la cepa *Ta.* 28 presentó mayor efecto inhibitorio, aunque sin diferir significativamente de las cepas *Ta.* 13 y *Ta.* 90 (Fig. 1A); mientras que, para el aislamiento *Scl.* 6, se destacaron *Ta.* 13 y *Ta.* 79 sin diferir de *Ta.* 28, *Ta.* 75, *Ta.* 85 y *Ta.* 90 (Fig. 1B). La acción fungistática que se originó antes del contacto hifal infiere la secreción de metabolitos difusibles al medio por parte de las cepas de *Trichoderma*.

El efecto inhibitorio de *Trichoderma* sobre otros hongos antes del contacto hifal se explicó con la secreción de metabolitos volátiles y no volátiles al medio (gliotoxina, viridina, trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina), que poseen efectos fungistáticos, y a la producción de enzimas extracelulares (peptinasas, cutinasas, glucanasas y quitinasas) difusibles hacia el medio, que afectan al patógeno (6,8,5). Estos compuestos pueden limitar la colonización del sustrato por los fitopatógenos, en su radio de acción (12).

Al analizar el crecimiento del agente fitopatógeno frente a las cepas más destacadas (*Ta.* 13, *Ta.* 28 y *Ta.* 90) cada 24 h, se observó que desde las 48 h las cepas inhibieron el crecimiento del aislado *Scl.* 5 (Fig. 2A); mientras que la cepa *Ta.* 90 inhibió el crecimiento del aislado *Scl.* 6 (Fig. 2B). Lo anterior es una evidencia de que estas cepas segregan metabolitos al medio de cultivo desde periodos tempranos de la interacción. La respuesta del aislado *Scl.* 6 frente a las cepas *Ta.* 13 y *Ta.* 28 en este periodo de tiempo pudiera estar relacionada con una baja



Medias con letras diferentes difieren significativamente, según Duncan ( $p \leq 0,05$ )

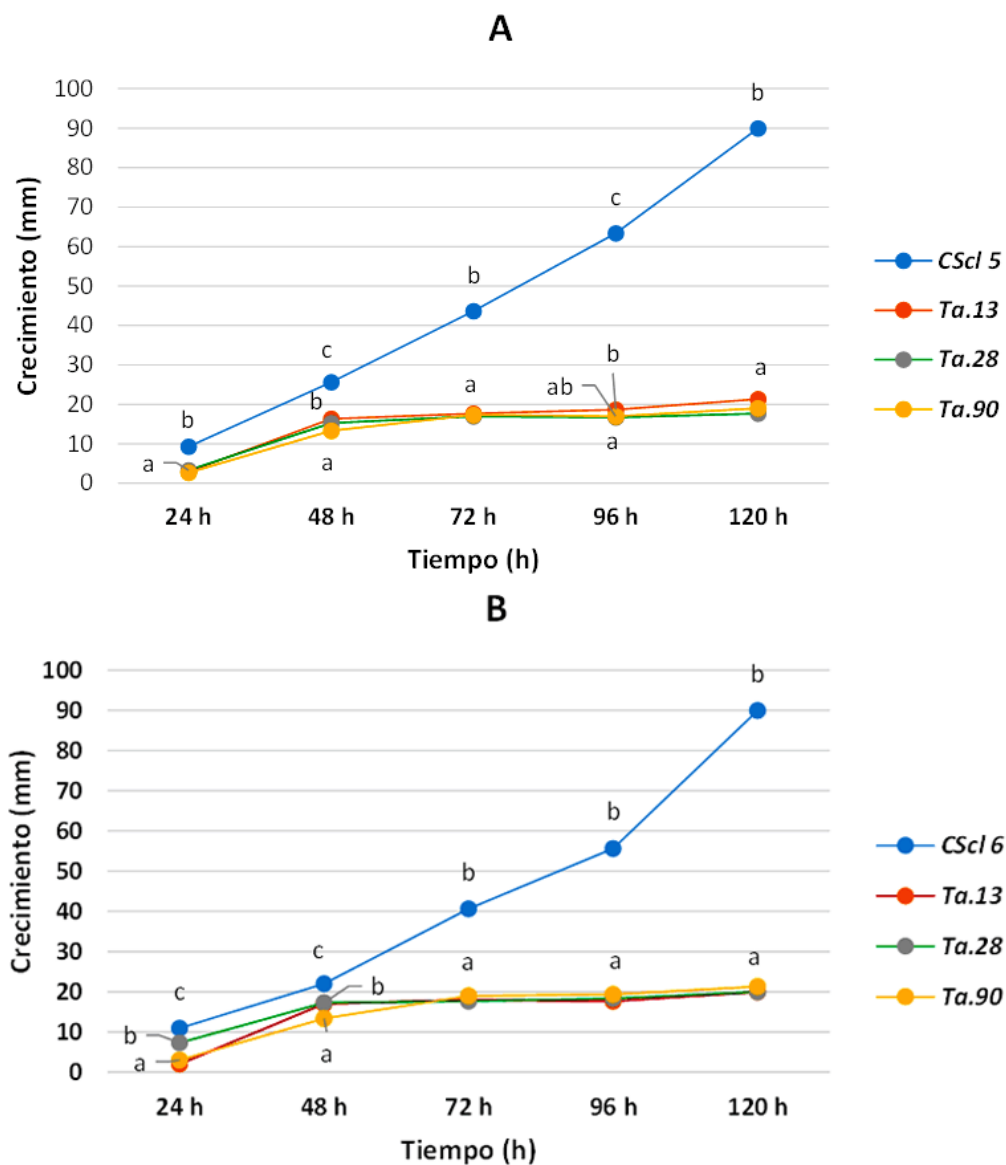
**FIGURA 1.** Inhibición del crecimiento micelial de los aislamientos de *S. rolfsii* por las cepas de *T. asperellum* a las 72 h. A- Scl. 5; B- Scl. 6. / Mycelial growth inhibition of *S. rolfsii* isolates at contacting with *T. asperellum* strains at 72 h. A- Scl. 5; B- Scl. 6.

concentración de los metabolitos inhibidores del crecimiento del mismo, o por ser estos poco difusibles en el medio, aspecto que se debe esclarecer en investigaciones futuras.

Los resultados de este estudio corroboran los notificados por Reyes *et al.* (7) y Martínez *et al.* (12), quienes demostraron la reducción del crecimiento de hongos fitopatógenos por el efecto de metabolitos no volátiles segregados por *Trichoderma* al medio de cultivo.

### Competencia por espacio

La mayoría de las cepas de *T. asperellum* evaluadas (Ta. 1, Ta. 13, Ta. 17, Ta. 28, Ta. 56, Ta. 75, Ta. 78, Ta. 79, Ta. 85, Ta. 90) a las 96 h, frente a los dos aislamientos del patógeno, se ubicaron en el grado 2 de la escala de Bell *et al.* (11). La excepción fue la cepa Ta. 17, que mostró características representativas del grado 5 de la escala (Fig. 3).



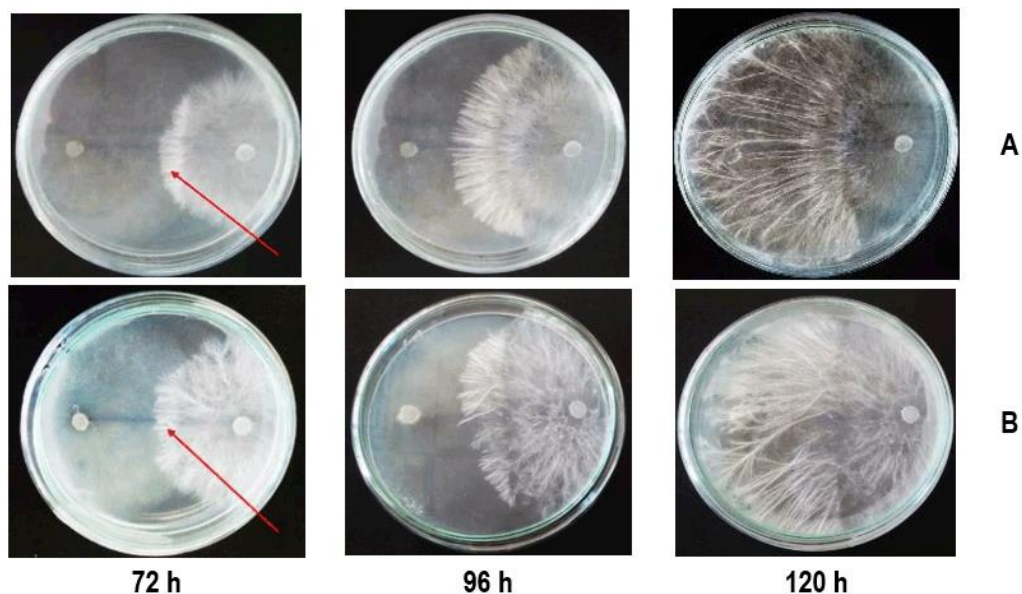
Medias con letras diferentes difieren significativamente, según Duncan ( $p \leq 0,05$ ).

**FIGURA 2.** Dinámica de crecimiento de aislamientos de *S. rolfsii* en CD frente a las cepas de *Ta.28* y *Ta.79*, hasta las 120 horas. A-Scl. 5; B-Scl. 6./ Growth dynamics of *S. rolfsii* isolates in dual culture with *Ta.28* and *Ta.79* isolates, up to 120 h. A-Scl. 5; B-Scl. 6.

El PICR de los aislados *Scl. 5* y *Scl. 6* varió entre 62,3-81,1 y 52,48-71,42 %, respectivamente. Resultados similares obtuvieron Aceves *et al.* (5) con cepas de *Trichoderma* spp. frente a *S. rolfsii* aislado de cacahuete (*Arachis hypogaea* L.), con 81,1 % de inhibición del crecimiento micelial del agente fitopatógeno.

Aunque la inhibición del crecimiento de los agentes fitopatógenos está relacionada

directamente con la potencialidad de los aislados del antagonista, en el presente estudio se observó un menor efecto de estos sobre *Scl. 6*, lo que evidenció una menor sensibilidad de este aislado a la acción de los antagonistas probados. La inhibición del crecimiento de las colonias de los aislados de los agentes fitopatógenos en estudio coincidió con los resultados informados por Guédez *et al.* (6),



**FIGURA 3.** Competencia por espacio de *T. asperellum* y *S. rolfsii*. Flecha indica inicio del desarrollo de *Sclerotium* por encima de la colonia de *Trichoderma*, A: *Ta.* 17-Scl. 5; B: *Ta.* 17-Scl. 6. / Competition for the space of *T. asperellum* and *S. rolfsii*. The arrow indicates beginning of *Sclerotium* development on the colony of *Trichoderma*, A: *Ta.* 17-Scl. 5; B: *Ta.* 17-Scl. 6.

los que justificaron con la mayor velocidad de crecimiento de *T. harzianum* frente a *S. rolfsii*.

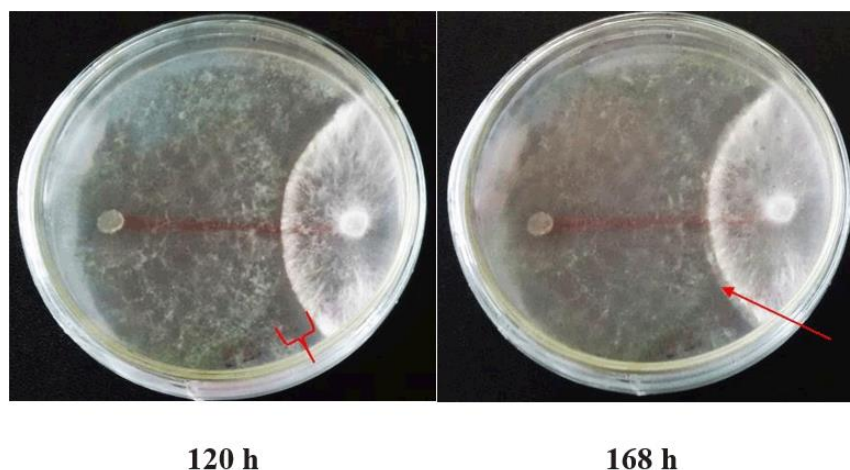
Reyes *et al.* (7) y Pino (13) notificaron que una de las características significativas de *Trichoderma* es su elevada velocidad de crecimiento, lo que le brinda la posibilidad de ser un buen competidor por espacio y nutrientes, fundamentalmente, en condiciones *in vitro* frente a patógenos causantes de enfermedades en las plantas. La mayor competencia por espacio de las cepas de *T. asperellum* mencionadas anteriormente, frente a los aislamientos de *S. rolfsii*, se debió a la elevada velocidad de crecimiento del antagonista, ya que la cepa *Ta.* 17 (Fig. 3) a las 72 h tuvo un crecimiento mayor que el agente fitopatógeno; sin embargo, a las 120 h el hongo fitopatógeno se desarrolló sobre la colonia de *Trichoderma*.

Este resultado corroboró lo obtenido por Rollan (14), quien informó que a una temperatura de 30°C, *S. rolfsii* fue capaz de inhibir el crecimiento de *Trichoderma* spp. Aceves *et al.* (5), en un estudio similar,

observaron sobrecrecimiento de *S. rolfsii* sobre uno de los antagonistas (*Tcn-7*). También Corrêa *et al.* (15) observaron efecto antagónico nulo de cepas de *T. harzianum* y *Trichoderma aureoviride* Rifai frente a *S. rolfsii* que permitió el crecimiento del patógeno sobre ellas.

Es evidente que, además de la velocidad de crecimiento del antagonista, en este mecanismo intervengan otros elementos, probablemente de origen bioquímico, decisivos para frenar el crecimiento del patógeno.

La mayor parte de los antagonistas, aunque se ubicaron en el grado 2 de la escala, solo detuvieron el desarrollo del patógeno al crecer a su alrededor (Fig. 4). A partir de las 120 h, los aislados del fitopatógeno comenzaron a crecer de nuevo en la zona de interacción, más fácilmente observable a las 168 h. Esto podría ser un indicativo de que los aislamientos de *S. rolfsii* son capaces de liberar sustancias al medio de cultivo al entrar en contacto con el antagonista, que impiden el avance de este y/o



**FIGURA 4.** Cultivo dual de *T. asperellum* frente a *S. rolfsii*, *Ta.* 28-*Scl.* 5. La flecha indica formación de un nuevo crecimiento producido por *Sclerotium* en la zona de contacto. La llave indica la zona de interacción. / Dual culture of *T. asperellum* in front of *S. rolfsii*, *Ta.* 28-*Scl.* 5. The arrow indicates formation of new growth produced by *Sclerotium* in the contact zone. The key indicates the interaction zone.

desintoxican los metabolitos excretados por *Trichoderma*, aspectos que se deben continuar investigando.

De forma general, la cepa *Ta.* 28 tuvo el mayor PICR para ambos aislados del patógeno, con valores diferentes significativamente al resto de las cepas de *Trichoderma*, respecto *Scl.* 5, y sin diferencias estadísticas con *Ta.* 13, *Ta.* 56, *Ta.* 75, *Ta.* 79 y *Ta.* 85 frente al aislado *Scl.* 6. (Fig. 5)

### Micoparasitismo

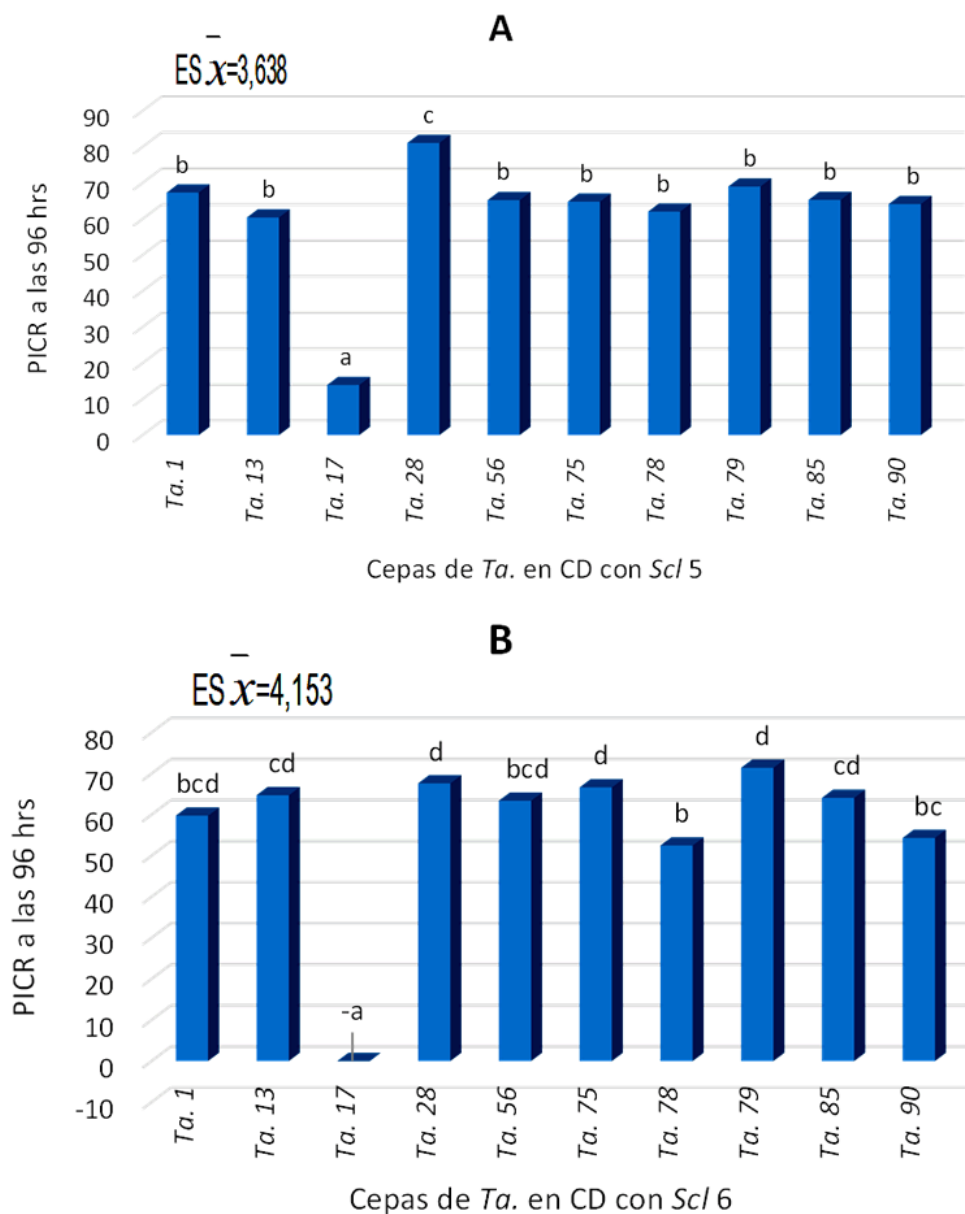
Las observaciones microscópicas de los fragmentos de micelios de la zona de contacto hifal, entre las cepas del antagonista y *S. rolfsii* en el CD mostraron, al menos, un tipo de interacción hifal definido (Tabla 1).

Todas las cepas del antagonista ocasionaron granulación del contenido citoplasmático en el micelio de los patógenos (Tabla 1). La mejor cepa fue *Ta.* 90, con tres tipos de interacciones hifales frente al agente fitopatógeno, seguido de *Ta.* 13 y *Ta.* 56 con tres tipos de interacción frente a los aislados del fitopatógeno (*Scl.* 5 y *Scl.* 6), indistintamente (Fig. 6). Las cepas *Ta.* 28 y *Ta.* 78 poseen interés práctico, pues penetraron las hifas de ambos aislados del

patógeno.

Diferentes autores notificaron estas interacciones de *Trichoderma* como un mecanismo antagónico eficaz para el control de hongos fitopatógenos, las cuales tuvieron similitud con las observadas en este estudio. León *et al.* (16) detectaron micoparasitismo de dos aislados de *Trichoderma* spp. (*Tb*111 y *Tc*241) frente a *S. rolfsii* con la presencia de estrangulamiento, degradación y lisis de las paredes de las hifas del fitopatógeno. Asimismo, Sandoval *et al.* (17) observaron hifas de *T. harzianum* y *Trichoderma pseudokoningii* Rifai parasitando el micelio de *Phytophthora capsici* Leonian y *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan.

Al integrar los resultados de los diferentes modos de acción evaluados, se concluye que las cepas de *T. asperellum* *Ta.* 13, *Ta.* 28 y *Ta.* 90 resultan promisorias para el control biológico de *S. rolfsii* en frijol. Estos resultados son la base para la determinación de la eficacia técnica de las mismas y para el establecimiento de indicadores como son la dosis, la formulación, el modo, el momento y la frecuencia de aplicación en condiciones de campo.



Medias con letras diferentes difieren significativamente, según Duncan ( $p \leq 0,05$ ).

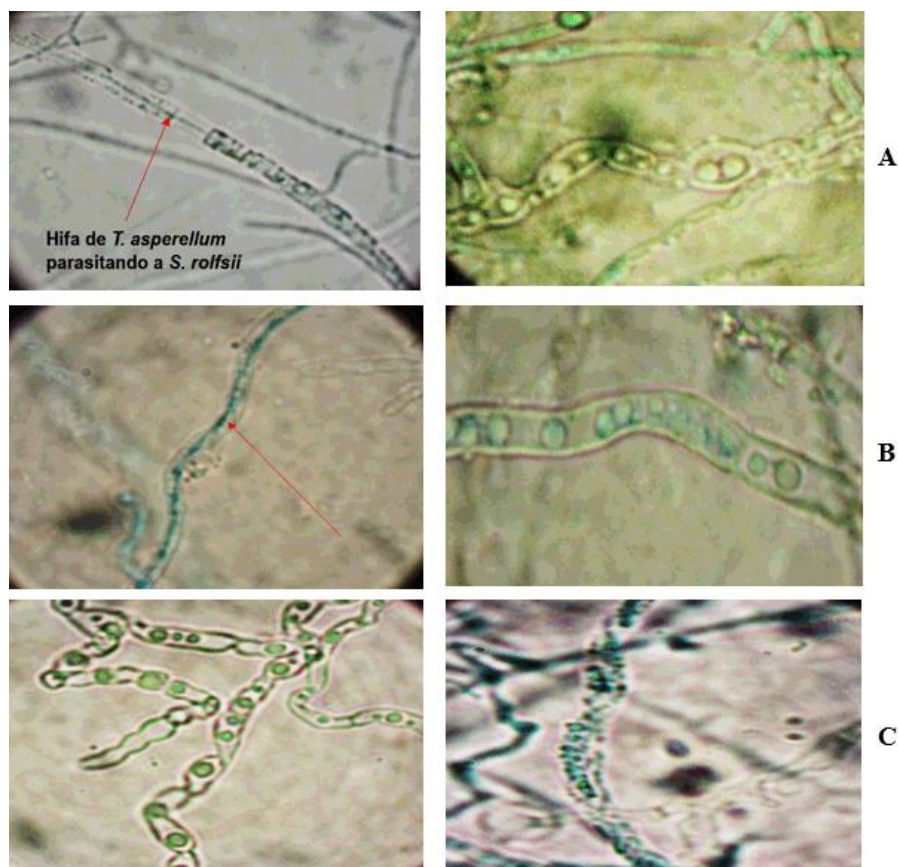
**FIGURA 5.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de aislamientos de *S. rolfsii* en cultivo dual (CD) con *T. asperellum*, a las 96 horas. A- *Scl.* 5; B- *Scl.* 6. / Radial growth inhibition of *S. rolfsii* isolates in dual culture (CD) with *T. asperellum* at 96 hours. A- *Scl.* 5; B- *Scl.* 6.



**TABLA 1.** Tipos de interacciones hifales entre las cepas de *T. asperellum* y *S. rolfsii*. / *Types of hyphal interaction between strains of T. asperellum and S. rolfsii.*

Cepas de <i>T. asperellum</i>	Aislamientos de <i>S. rolfsii</i>	
	<i>Scl</i> 5	<i>Scl</i> 6
<i>Ta.</i> 1	G - L	G
<i>Ta.</i> 13	G - L - P	G - V
<i>Ta.</i> 17	G - E	G - P
<i>Ta.</i> 28	G - P	G - P
<i>Ta.</i> 56	G	G - V - P
<i>Ta.</i> 75	G	G
<i>Ta.</i> 78	G - P	G - P
<i>Ta.</i> 79	G - V	G
<i>Ta.</i> 85	G - V	G - V
<i>Ta.</i> 90	G - V - P	G - L - V

**Leyenda:** (V) Vacuolización, (L) Lisis, (E) Enrollamiento, (P) Penetración, (G) Granulación.



**FIGURA 6.** Interacciones hifales entre *T. asperellum* y *S. rolfsii*. A. *Ta.* 13 vs *Scl.* 5 (penetración, lisis y granulación); B. *Ta.* 56 vs *Scl.* 6 (penetración y vacuolización); *Ta.* 90 vs *Scl.* 6 (granulación y vacuolización). Las flechas indican interacción hifal (penetración). / *Hyphal interactions between T. asperellum and S. rolfsii.* A. *Ta.*13 vs *Scl.*5 (penetration, lysis, and granulation); B. *Ta.*56 vs *Scl.*6 (penetration and vacuolization); C. *Ta.*90 vs *Scl.*6 (granulation and vacuolization). Arrows indicate hyphal interaction (penetration).

## REFERENCIAS

1. Hernández CA, Quintero E, Herrera L. Respuesta varietal y pérdidas causadas por el hongo *Sclerotium rolfsii* en frijol común en diferentes épocas de siembra. Centro Agrícola. 2012; 39(1): 75-78.
2. Granados MM. Pudrición blanca de la cebolla: una enfermedad difícil de combatir. Agronomía Costarricense. 2005; 29(2): 143-156.
3. Díaz M, Bernal A, Delgado M. Afectaciones por hongos del suelo en el cultivo del frijol común, en época temprana. Centro Agrícola. 2007; 34(3): 35-38.
4. Rodrigues KP. Avaliação de *Trichoderma* e de fosfito no controle de *Sclerotium rolfsii* agente da mucrcha de esclerócio em feijoeiro. 2012. Tesis de maestría en Agronomía. [Consultado: 26 de abril de 2017]. Disponible en: [http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/11184/1/2012\\_KleniaRodriguesPacheco.pdf](http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/11184/1/2012_KleniaRodriguesPacheco.pdf)
5. Michel-Aceves AC, Otero-Sánchez MA, Ariza-Flores R, Barrios-Ayala A, Alarcón-Cruz N. Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuate. Avances en Investigación Agropecuaria. 2013. 17(3): 89-107.
6. Guédez C, Cañizalez L, Castillo C, Olivar R. 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. 2012; 32:44-49.7.
7. Reyes Y, Martínez B, Infante D. Evaluación de la actividad antagonica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. Rev. Protección Veg. 2008; 23(2):112-117.
8. García S, Moya J, Avilés E, Andújar F, Núñez P. Efectividad de *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento micelial de fitopatógenos de suelo en plato Petri. Revista APF. 2015; 4(2): 43-66.
9. Infante D, Reyes Y, Gonzalez N, Martínez B. Molecular identification of thirteen isolates of *Trichoderma* spp. and evaluation of their pathogenicity towards *Rhizoctonia solani* Kühn. Biotecnología aplicada, 2013; 30: 23-28.
10. Martínez B, Solano T. Antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria solani* (Ellisy Martin) Jones y Grout. Rev. Protección Veg. 1995; 10 (3):221-225.
11. Bell DK, Wells HD, Markam CR. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against six fungal pathogens. Phytopathology. 1982; 72:379-382.
12. Martínez B, Infante D, Reyes Y. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev. Protección Veg. 2013; 28(1):1-11.
13. Fernández RJ, Suárez CL. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp *passiflorae* en maracuyá (*Passiflora edulis* Sims var. *flavicarpa*) del municipio zona bananera colombiana. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 2009; 62(1): 4743-4748.
14. Rollan M, Mónaco C, Nico A. Efecto de la temperatura sobre la interacción *in vitro* de especies de *Trichoderma* y *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor* y *Sclerotium rolfsii*. Invest. Agr. Prod. Prot. Veg. 1999; 14(1-2):33-48.
15. Corrêa S, Mello M, Ávila Z, Minaré L, Pádua R, Gomes D. Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. Fitosanidad. 2007; 11(1):3-9.

16. León R, Pino SC, Núñez DB. Aislamiento y selección de cepas de *Trichoderma* y su efecto antagonista frente a *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. Centro Agrícola. 2012; 39(2):43-48.
17. Sandoval I, López MO. Hiperparasitismo de *Trichoderma harzianum*, *T. viride* y *T. pseudokoningii* sobre diferentes hongos fitopatógenos. Fitosanidad. 2001;5(1):41-43.