

Nota técnica

Evaluación de sustratos sobre la tasa de crecimiento radial de cultivos duales de *Trichoderma harzianum* Rifai y *Rhizoctonia solani* Kühn

Jesús Acosta Mata¹, Maria Claudia Sánchez–Cuevas^{1*}, Ramón Silva–Acuña²

¹Universidad de Oriente, Núcleo Monagas, Escuela de Ingeniería Agronómica, Maturín, Venezuela. ²Postgrado de Agricultura Tropical, Clínica Universitaria de Diagnóstico Agrícola (CUDA), Maturín. *Correo electrónico: mcsanchez@udo.edu.ve

RESUMEN

Rhizoctonia solani Kühn es un patógeno del suelo que causa enfermedades, que afectan tanto partes aéreas como subterráneas de plantas, en un amplio rango de hospedantes. La eficacia de *Trichoderma* para controlar enfermedades causadas por *R. solani* se demuestra, tanto en condiciones controladas como de campo. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la acción antagónica de *Trichoderma harzianum* sobre aislamientos de *R. solani*, en cultivos duales *in vitro*; y, determinar el efecto de diferentes sustratos sobre la tasa de crecimiento radial de las colonias de ambos hongos. El experimento se realizó en condiciones de laboratorio. Se utilizaron cápsulas de Petri con medios de cultivos preparados con agar-papa-dextrosa, agar-zanahoria-dextrosa, agar-remolacha-dextrosa y agar- auyama-dextrosa. En estas se colocaron simultáneamente y, en extremos opuestos de las cápsulas, discos de 1cm de diámetro con micelio de ambos hongos, criados en PDA. Al cumplirse 24 horas de la siembra de los hongos y por intervalos de 12 horas, hasta completar 96 horas, se midió el crecimiento radial de las colonias. La tasa de crecimiento radial de *R. solani* fue mayor que la de *T. harzianum* en el medio de cultivo auyama-dextrosa-agar y entre los aislamientos; indistintos del sustrato, la mayor tasa de crecimiento le correspondió a *R. solani*. En todos los sustratos, se verificó óptimo biocontrol de *Rhizoctonia* por parte de *Trichoderma*. La confrontación micelial siempre ocurrió en el hemisferio de la placa de Petri perteneciente a *T. harzianum*, comportamiento relacionado a la mayor velocidad de crecimiento de *R. solani*.

Palabras clave: biocontrol, *in vitro*, micelio, patógeno.

Evaluation of substrates on the rate of radial growth of dual cultures of *Trichoderma harzianum* Rifai and *Rhizoctonia solani* Kühn

ABSTRACT

Rhizoctonia solani Kühn is a soil pathogen that causes diseases, which affect both aerial and underground parts of plants, in a wide range of hosts. The effectiveness of *Trichoderma* in controlling diseases caused by *R. solani* is demonstrated, both under controlled and field conditions. The objective of the present investigation was to evaluate the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* on isolates of *R. solani*, in dual *in vitro* cultures; and, determine the effect of different substrates on the radial growth rate of the colonies of both fungi. Under laboratory conditions, using Petri dishes with culture media prepared with agar-potato-dextrose, carrot-dextrose agar, beet-beet-dextrose and agar-ayama-dextrose, they were placed simultaneously and at opposite ends of the capsules, 1cm diameter discs with mycelium of both fungi, raised in PDA. At the end of 24 hours after planting the fungi and at intervals of 12 hours to complete 96 hours, the radial growth of the colonies was measured. The radial growth rate of *R. solani* was higher than that of *T. harzianum* in the auyama-dextrose-agar culture medium and among the isolates; Indistinct of the substrate, the highest growth rate corresponded to *R. solani*. In all substrates, optimal biocontrol of *Rhizoctonia* by *Trichoderma* was verified. The mycelial confrontation always occurred in the hemisphere of the Petri dish belonging to *T. harzianum*, behavior related to the higher growth rate of *R. solani*.

Key words: biocontrol, *in vitro*, mycelium, pathogen.

Recibido: 24/10/17 Aprobado: 06/11/18

INTRODUCCIÓN

Rhizoctonia solani Kühn es un patógeno del suelo que causa enfermedades en un amplio rango de hospedantes de cultivos agrícolas, hortícolas y florícolas (Van Den Boogert 1999); estas enfermedades afectan tanto partes aéreas como subterráneas de plantas. El patógeno sobrevive por largos periodos en ausencia del hospedero, mediante esclerocios o hifas de paredes gruesas. Su condición de sobrevivencia lo convierte en buen competidor saprofito, que puede colonizar muchos sustratos; tolerar cambios amplios de condición ambiental, tanto para su supervivencia como para su acción patogénica sobre tejidos juveniles o en estrés fisiológico (Tovar 2008).

Entre las enfermedades más comunes causadas por este fitopatógeno es el damping-off o salcocho de los semilleros, que induce la caída y muerte de plántulas como consecuencia del estrangulamiento y necrosis del tallo a nivel del cuello (Cedeño *et al.* 2001). Es notable la actividad micoparasítica contra *Rhizoctonia* spp., de aislamientos de *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*, *T. viridae*, *T. virens* y *Trichoderma* spp. (Howell *et al.* 2000, Lewis y Papavizas 1991).

Mathivanan *et al.* (2000) señalan que la eficacia de *Trichoderma* para controlar enfermedades causadas por *R. solani* se demuestra, tanto en condiciones controladas como de campo. En cultivos de algodón, lechuga, berenjena y girasol, los autores, lograron reducciones significativas del patógeno. *Trichoderma* es el género fúngico más estudiado como agente de control de enfermedades en plantas (Tondje *et al.* 2007).

Tovar (2008) indica que la utilización de especies de *Trichoderma* para el control de *R. solani* en esquejes de clavel es una estrategia promisoriosa para el manejo de enfermedades, en condiciones de invernadero; esto debido a que, la mayoría de los aislamientos evaluados redujeron la severidad de la enfermedad.

En pruebas *in vitro*, se evaluaron aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium rolfsii* y *R. solani*. En estas se encontró 100% de actividad

antagónica contra el primero, mientras que para el segundo todos fueron efectivos excepto *T. asperellum* (Hoyos *et al.* 2008). De manera similar, Hernández *et al.* (2006) observaron inhibición entre 40-50% del crecimiento radial de *R. solani* (aislada de piña) en cultivo dual con diferentes aislados de *Trichoderma*. Reyes *et al.* (2006) observaron efectividad antagónica y micoparasítica de *Trichoderma* para el control de *R. solani* aislado de arroz. Cundom *et al.* (2003) al evaluar nueve aislamientos de *T. harzianum* sobre *R. solani* constataron a los siete días, efectivo antagonismo de todos los aislamientos de *Trichoderma* sobre *Rhizoctonia*, a excepción de uno que cesó su crecimiento y fue invadido por el patógeno.

En investigaciones realizadas con cultivos duales en capsulas de Petri, se ha demostrado la efectividad de los aislamientos de *Trichoderma* sobre varios fitopatógenos, en particular, patógenos de suelo. Entre esos estudios, Jaramillo (2014) evaluó el efecto antagonista de *Trichoderma koningii*, *Trichoderma harzianum* cepa Zamorano y cepa Choluteca sobre los hongos patógenos *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. y *Phytophthora* sp. El autor constató que a los siete días todas las cepas de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento radial de los patógenos. De manera similar, García (2015) empleó cepas del hongo *Trichoderma*, obtenidas a partir de muestras de suelo y de material vegetal contra los fitopatógenos *Fusarium* spp. y *Colletotrichum* spp, con la técnica de enfrentamiento dual. En el estudio observó que el porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp., sobre el crecimiento de *Fusarium* spp. fue de 72% y de 59% contra *Colletotrichum* spp. También, Reyes *et al.* (2012) evaluaron el control de *Trichoderma* sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento de *Fusarium* sp., aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*). Todas las cepas de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento del hongo fitopatógeno *Fusarium* sp., entre el 40 y el 82 %.

En la misma condición, Sánchez *et al.* (2015) valoraron el uso de especies del género *Trichoderma* como agentes de control biológico de *F. oxysporum*, causal del "mal de almácigos" en cebolla. *Trichoderma koningiiopsis*

y *T. atroviride* inhibieron en 50% al patógeno en cultivos duales. Sanmartín-Negredo *et al.* (2013) ponderaron la contribución de diferentes modos de acción en la actividad antagónica total *in vitro* de cuatro cepas de *Trichoderma asperellum* frente a los fitopatógenos *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium* sp.; constataron que la capacidad antagónica de las cepas se definió, principalmente, por el enfrentamiento directo y la actividad de los metabolitos volátiles. Todas las cepas de *T. asperellum* evaluadas, con excepción de *Ta. 78*, inhibieron el crecimiento de los aislamientos de *Fusarium* a partir de las 48 h. Las cepas *Ta.1* y *Ta. 79* presentaron los mayores porcentajes de inhibición del crecimiento, con valores máximos de 44 - 47 % y 41- 48,72 % para *F. dlamini* y *F. solani*, respectivamente, y la mayor cantidad de interacciones hifales.

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar la acción antagónica de *T. harzianum* sobre aislamientos de *R. solani*, en cultivos duales *in vitro*, y determinar el efecto de diferentes sustratos sobre la tasa de crecimiento radial de las colonias de ambos hongos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de los experimentos y aislamientos

Los experimentos se realizaron en condiciones de laboratorio, en la Clínica Universitaria de Diagnóstico Agrícola (CUDA), adscrita al Postgrado de Agricultura Tropical del Núcleo Monagas de la Universidad de Oriente, Maturín, estado Monagas.

Se empleó aislamientos puros de *R. solani* Kühn y *T. harzianum* Rifai cultivados en PDA (papa-dextrosa-agar). El primer aislamiento provino de la Micoteca de la CUDA, y el segundo aislamiento lo suministró el Instituto Autónomo de Sanidad Agrícola Integral del estado Monagas (INSAI-Monagas).

En cada cápsula de Petri, contentiva del respectivo medio de cultivo, se implantaron cultivos duales de *T. harzianum* y *R. solani* en discos de PDA de 1 cm. de diámetro (en los polos opuestos

de la placa y contiguos al borde de la misma). En estas se cuantificó la zona de crecimiento activo del micelio de los aislamientos.

Tratamientos y diseño experimental

Se elaboraron cuatro medios de cultivos, en los que se utilizó como base el agar y la dextrosa, combinándolos con la decocción de la papa (*Solanum tuberosum* L.), de la remolacha [*Beta vulgaris* (L.) Koch], de la zanahoria (*Daucus carota* L.) y de la auyama (*Cucúrbita máxima* Dutch); cada uno, de forma independiente.

Para cada medio de cultivo se emplearon 200 g de trozos pelados de papa, remolacha, zanahoria y auyama, respectivamente; estos se colocaron en un litro de agua y se hirvieron. Durante la cocción de la auyama, remolacha y zanahoria hubo necesidad de reponer agua, debido a la pérdida por evaporación, hasta que los trozos se ablandaron. Una vez colada la decocción, de cada una de estas, en dos capas de gasa, el filtrado se colocó en un erlenmeyer de 2 L; se le agregó 20 g de sacarosa y 15 g de agar (mantenidos sobre agitación constante y a la temperatura de 100°C en calentador-agitador Orbital PC-351, hasta su completa dilución) enrasándolos a 1 L. Cada uno de los medios se llevó al autoclave MARKET FORGE, por 15 minutos, 15 psi y 121 °C, para su esterilización. Los cultivos puros de los aislamientos de *T. harzianum* y *R. solani* se mantuvieron en medio PDA (Rivero *et al.* 2013).

Se empleó el diseño experimental de bloques al azar, con organización factorial de ocho tratamientos (dos aislamientos fúngicos x cuatro medios de cultivo) y tres repeticiones. Cada repetición estuvo constituida por seis cápsulas de Petri con el respectivo medio de cultivo y sembradas con cultivos duales puros de *T. harzianum* y *R. solani*. Una vez transcurridas las primeras 24 horas después de la inoculación de las diferentes cápsulas de Petri con los cultivos duales de los hongos, y a intervalos de 12 horas hasta 96 horas (3 días a partir de la siembra de discos), se midió el crecimiento radial en centímetros (cm) de las respectivas colonias en cada cápsula.

Análisis estadístico

Previo al análisis de varianza, los valores calculados de la tasa de crecimiento usando como base el crecimiento radial se exploraron en relación a la normalidad de los errores por la prueba de Shapiro Wilk y la de homogeneidad de varianza de Bartlett. Las tasas de crecimiento radial obtenidas se examinaron por análisis de varianza y la comparación de medias por la prueba de Tukey al nivel de 5 % de probabilidad. Los análisis se realizaron con el programa estadístico Infostat versión 2017 (Di Rienzo *et al.* 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis para la variable tasa de crecimiento radial, tanto para la prueba de Shapiro-Wilk como para la de Bartlett, se constató normalidad en los errores y homogeneidad de la varianza, respectivamente.

Los valores promedios de las tasas de crecimiento radial (cm), de las colonias de *T. harzianum* y *R. solani* obtenidos mediante los cultivos duales, medidos cada 12 horas, en los diferentes sustratos evaluados están indicados en el Cuadro 1. Se puede observar, de manera consistente, que en todos los casos, con excepción de la repetición

tres para el sustrato PDA, el crecimiento radial experimentado por la colonia de *R. solani* siempre fue mayor que la de *T. harzianum*.

El análisis de varianza de las tasas de crecimiento (Cuadro 2) evidenció la existencia de diferencias significativas por la prueba de F a 5 y 1% de probabilidad, para los medios de cultivo, así como también entre los aislamientos fúngicos, respetivamente; mientras que, no se detectó diferencias para la interacción medios de cultivo y aislamientos.

La comparación para medios de cultivo (Cuadro 3) permitió constatar, por la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad, que el medio Auyama-Dextrosa-Agar presento la mayor tasa, con diferencias estadísticas del medio Zanahoria-Dextrosa-Agar que mostro la menor tasa de crecimiento radial. Los medios Remolacha-Dextrosa-Agar y Papa-Dextrosa-Agar formaron un grupo intermedio similares estadísticamente y que no difieren de los otros dos medios de cultivo evaluados.

En el Cuadro 4, están indicadas las tasas promedio de crecimiento radial de las colonias de *R. solani* y *T. harzianum*, indiferentemente del tipo sustrato que se utilizó. Se constata por la prueba

Cuadro 1. Tasas promedio de crecimiento radial (cm) de colonias de *R. solani* y *T. harzianum* en cultivos duales sobre diferentes sustratos.

Medios de cultivo	Aislamiento	Repetición			Promedio
		I	II	III	
Papa-Dextrosa-Agar	<i>Rhizoctonia solani</i>	0,82	0,92	0,57	0,77
	<i>Trichoderma harzianum</i>	0,73	0,60	0,65	0,66
Zanahoria-Dextrosa-Agar	<i>R. solani</i>	0,66	0,69	0,69	0,68
	<i>T. harzianum</i>	0,60	0,62	0,56	0,59
Remolacha-Dextrosa-Agar	<i>R. solani</i>	0,76	0,80	1,02	0,86
	<i>T. harzianum</i>	0,58	0,61	0,76	0,65
Auyama-Dextrosa-Agar	<i>R. solani</i>	1,02	0,95	1,03	1,00
	<i>T. harzianum</i>	0,63	0,74	0,68	0,68

Cuadro 2. Análisis de varianza de las tasas de crecimiento de colonias de *R. solani* y *T. harzianum* en cultivos duales sobre diferentes sustratos.

Fuente de variación	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F
Medios de cultivo	3	0,130	0,0436	4,30*
Aislamientos	1	0,196	0,1962	9,68**
Medios de cultivo x Aislamientos	3	0,049	0,0165	2,15 ^{ns}
Bloques	2	0,001	0,0009	0,08 ^{ns}
Error	14	0,141	0,0101	
CV (%)			13,66	

Gl: Grado de libertad; CV: Coeficiente de variación; ns: no significativo; *, ** significativo a 5 y 1% de probabilidad por la prueba de F.

Cuadro 3. Promedios de las tasas de crecimiento radial (cm) entre los diferentes medios de cultivo de colonias de *R. solani* y *T. harzianum*, en cultivos duales independiente del aislamiento evaluado.

Medios de cultivo	Ámbito estadístico
Auyama-dextrosa-agar	0,84 a
Remolacha-dextrosa-agar	0,75 ab
Papa-dextrosa-agar	0,71 ab
Zanahoria-dextrosa-agar	0,63 b
Dms	0,16

Medias seguidas de la misma letra no difieren entre sí por la prueba de Tukey a 5 % de probabilidad

Cuadro 4. Promedios entre las tasas de crecimiento radial (cm) de colonias de *R. solani* y *T. harzianum*, en cultivos duales independiente del sustrato.

Aislamiento	Ámbito estadístico
<i>Rhizoctonia solani</i>	0,82 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,64 b
Dms	0,08

Medias seguidas de la misma letra no difieren entre sí por la prueba de Tukey a 5 % de probabilidad.

de Tukey a 5 % de probabilidad que la mayor tasa de crecimiento le correspondió a *Rhizoctonia*, en relación al aislamiento de *Trichoderma*.

Los resultados obtenidos en esta investigación señalan que al momento de la última evaluación (96 horas después de la siembra de cultivos duales), en todas las combinaciones de tratamientos se evidenció un efectivo antagonismo de *T. harzianum* sobre *R. solani*; a pesar del más rápido crecimiento de este último (Figura 1). Es resaltante lo traslúcido de los micelios de ambos hongos en las placas con Zanahoria-Dextrosa-Agar (C) y Auyama- Dextrosa-Agar (D).

En cada caso el encuentro micelial de ambas colonias con efectivo antagonismo de *T. harzianum* sobre *R. solani* ocurrió en el hemisferio de la placa perteneciente al primer aislamiento; lo que se atribuye a la mayor tasa de crecimiento de *R. solani*. Este resultado concuerda con lo reportado por Hoyos *et al.* (2008), quienes evaluaron *in vitro* y en invernaderos aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *R. solani* y *S. rolfsii*. Encontraron que era necesario el establecimiento inicial de *Trichoderma* spp., en las capsulas de Petri de 12 a 24 horas antes, ya que el crecimiento del antagonista era menor comparado con el del fitopatógeno durante los tres a cinco días iniciales. Osorio *et al.* (2016) obtuvieron resultados similares, al evaluar las cepas T18 y T16 de *T. asperellum*. Los autores reportaron que las cepas de *T. asperellum* mostraron efecto antagónico contra *R. solani* (TJ53, ACH42 y HSO56).

Tovar (2008), en su trabajo de evaluación de la capacidad antagonista *in vivo* de aislamientos de *Trichoderma* spp., frente al hongo entomopatógeno *R. solani* en cultivos duales, encontraron que a las 72 horas había un porcentaje de inhibición micelial en *R. solani* entre 40 y 60%. Eso ocasionado por los seis aislamientos de *Trichoderma* objetos de evaluación. Inhibiciones generales de entre 50 y 90 % del crecimiento micelial en tres grupos anastomósicos de *R. solani* las reportaron Infante *et al.* 2013; como resultado del efecto antibiótico *in vitro* de trece aislamientos de *Trichoderma* spp.

Con dos aislamientos de *Trichoderma* spp., y el uso del método de cultivo dual Martínez *et al.* 2008, lograron inhibir más del 50% del crecimiento radial de *R. solani*. De igual manera, Reyes *et al.* 2008, observaron la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre *Rhizoctonia* sp. Los autores encontraron que a las 96 horas todos los aislamientos habían presentado efecto inhibitorio sobre el patógeno.

La efectividad del control de *T. harzianum* sobre otros hongos fitopatógenos se ratifica en esta investigación como fue señalada por Jaramillo (2014) sobre *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. y *Phytophthora* sp; de manera similar por García (2015) sobre *Fusarium* spp., y *Colletotrichum* spp, Reyes *et al.* (2012), sobre *Fusarium* sp., aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*). Aún en cultivos duales, Sánchez *et al.* (2015) indican que *Trichoderma koningiopsis*

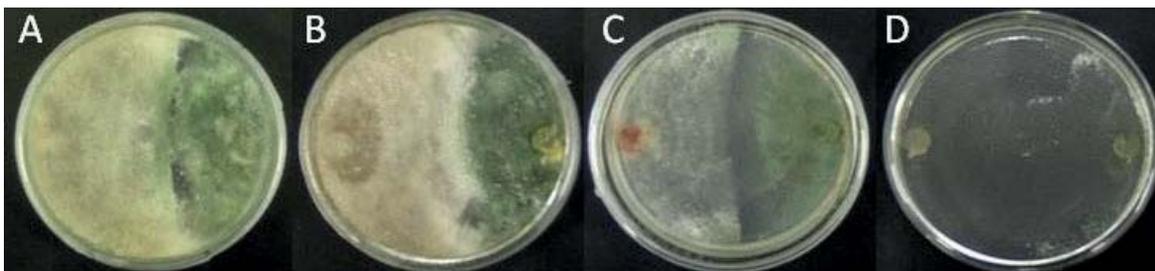


Figura 1. Crecimiento radial de *T. harzianum* (derecha) y *R. solani* (izquierda) en cada placa de los diferentes medios de cultivo estudiados: [A] Papa-Dextrosa-Agar (PDA); [B] Remolacha-Dextrosa-Agar (RDA); [C]: Zanahoria-Dextrosa-Agar (ZDA) y [D]: Auyama-Dextrosa-Agar (ADA).

y *T. atroviride* actuaron como controladores biológicos de *F. oxysporum*, agente causal del “mal de almácigos” en cebolla. La capacidad antagónica de las cepas de *Trichoderma* ocurre principalmente, por el enfrentamiento directo y la actividad de los metabolitos volátiles (Sanmartín-Negredo et al. 2013).

Es pertinente señalar que, por primera vez se indica el uso de medio de cultivo con auyama, en vez de la papa, que se emplea tradicionalmente. Así, se ofrece una alternativa promisoriosa para el estudio de hongos fitopatógenos y controladores biológicos, donde se observó la mayor tasa de crecimiento de las colonias fúngicas evaluadas.

CONCLUSION

Ocurrió efectivo antagonismo de *T. harzianum* sobre *R. solani* en todas las combinaciones de los tratamientos evaluados; aun con la tasa de crecimiento radial de *R. solani* superior a la de *T. harzianum*, particularmente en el medio Auyama-Dextrosa-Agar.

LITERATURA CITADA

- Cedeño, L; Carrero, C; Quintero, K; Araujo, Y; Pino, H; García, R. 2001. Identificación y virulencia de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn asociados con papa en Mérida, Venezuela. *Interciencia* 26(7): 296-300.
- Cundom, M; Mazza, S; Gutiérrez, S. 2003. Short communication. Selection of *Trichoderma* spp. isolates against *Rhizoctonia solani*. *Spanish Journal of Agricultural Research* 1(4): 79-82.
- Di Rienzo JA; Casanoves F; Balzarini MG; González L; Tablada M; Robledo CW. 2017. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- García, LA. 2015. Evaluación del antagonismo de cepas de *Trichoderma* spp., frente a cepas de *Fusarium* spp. y *Colletotrichum* spp., aisladas de cultivos orgánicos de sábila (*Aloe vera*) y arándano (*Vaccinium corymbosum*). *Revista TECKNE* 13 (1):56-66.
- Hernández, MA; Sierra, PA; Carr, P. 2006. Evaluación *in vitro* del antagonismo de especies de *Trichoderma* sobre hongos fitopatógenos que afectan las vitroplantas de piña (*Ananas comosus* L. Merr.). Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ciudad de la Habana, Cuba. *Revista Fitosanidad* 10(2):105-108.
- Howell, CR; Hanson LE; Stipanovic RD; Puckhaber LS. 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology* 90: 248-252.
- Hoyos C, L; Chaparro, P; Abramsky, M; Chet, I; Orduz, S. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. *Agronomía Colombiana* 26(3):451-458.
- Jaramillo C, GV. 2014. Evaluación *in vitro* de la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* sp. *Alternaria* sp. y *Phytophthora* sp. Proyecto especial graduación de Ingeniero Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras 17p. Disponible en <https://pdfs.semanticscholar.org/7d21/4ca68ef4232f2f89490dcc45fa902faa0319.pdf>
- Lewis, JA; Papavizas GC. 1991. Biocontrol of damping-off caused by *Rhizoctonia solani* in the field with formulations of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens*. *Crop Protection* 10: 396-402.
- Mathivanan, N; Srinivasan, K; Chelliah, S. 2000. Biological control of soil-borne diseases of cotton, eggplant, okra and sunflower by *Trichoderma viride*. *Z. Pflanzenk. Pflanzen.* 107:235-244.
- Martínez, B; Reyes, Y; Infante, D; González, E; Baños, H; Cruz, A. 2008. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp., candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia*

- sp., en arroz. *Revista Protección Vegetal* 23(2):118-125.
- Osorio H, E; Hernández C, FD; Rodríguez H, R; Varela F, SE; Estrada D, B; López S, JA. 2016. Actividad antagonista de *Trichoderma* spp., sobre *Rhizoctonia solani* *in vitro*. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. 67:5-11.
- Reyes, RT; Rodríguez, GG; Pupo, ZD; Alarcón, PL; Limonta, CY. 2006. Efectividad *in vitro* de *Trichoderma harzianum* (Rifai) para el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Piricularia grisea* (Sacc) aislados en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal Ciudad de la Habana, Cuba. *Revista Fitosanidad* 11(1):29-33.
- Reyes, Y; Martínez, B; Infante, D. 2008. Evaluación de la actividad antagonista de trece aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre *Rhizoctonia* sp. *Revista Protección Vegetal* 23(2):112-117.
- Reyes, RA; Alejo, JC; Ruiz, SE; Tun S, JM. 2012. Inhibición del crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp., aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con hongos antagonistas. *Fitosanidad* 16(3):161-165.
- Rivero, QC; Sánchez-Cuevas, MC; Silva-Acuña, R. 2013. Evaluación de extractos acuosos de diferentes especies vegetales para el control *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. *Revista Científica UDO Agrícola* 13(1):66-70.
- Sánchez, AD; Barrera, V; Reybet, GE; Sosa C, MC. 2015. Biocontrol con *Trichoderma* spp., de *Fusarium oxysporum* causal del “mal de almácigos” en pre y post emergencia en cebolla. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 114 (1):61-70.
- Sanmartín-Negredo, P; López, X; Pemberthy, MP; Granada-Sinar, D; Rueda-Lorza, EA. 2012. Análisis del modo de acción y de la capacidad antagonista de *Trichoderma asperellum* sobre *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium* sp. *Revista Tumbaga*, 2(7):29-49.
- Tondje, PR; Roberts, DP; Bon, MC; Widmer, T; Samuel, GJ; Ismaiel, A. 2007. Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for suppression of black pod disease of cacao in Cameroon. *Biological Control* 43(2):202-212.
- Tovar C, JC. 2008. Evaluación de la capacidad antagonista *in vivo* de aislamientos de *Trichoderma* spp., frente al hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 81 p.
- Van Den Boogert P, HJ. 1999. Mycoparasitism and biocontrol of *Rhizoctonia solani*. *Summa Phytopathologica* 25:107-110.