

Artículo reseña

MECANISMOS DE ACCIÓN DE *Trichoderma* FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS

Danay Infante*, B. Martínez*, Noyma González* y Yusimy Reyes**

*Dpto. Fitopatología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. Correo electrónico: danay@censa.edu.cu,

**Dpto. Biología y Sanidad Vegetal, Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez" (UNAH). San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

RESUMEN: Los hongos antagonistas resultan importantes para el control biológico de los fitopatógenos. En este sentido, las especies del género *Trichoderma* se destacan entre las más utilizadas para el biocontrol de patógenos fúngicos del suelo. Estas especies presentan diferentes modos o mecanismos de acción que le permiten el control de los fitopatógenos. Entre estos mecanismos se encuentran: competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno, resistencia inducida, entre otros. Mientras mayor sea la probabilidad de que un aislamiento de *Trichoderma*, manifieste varios modos de acción; más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno, aspectos que no poseen los plaguicidas químicos. En el artículo, los autores se proponen realizar una compilación sobre los modos de acción de *Trichoderma* frente a los patógenos.

(Palabras clave: *Trichoderma*; antagonismo; biocontrol)

Trichoderma MECHANISMS OF ACTION AGAINST PHYTOPATHOGEN FUNGI

ABSTRACT: Antagonist fungi play an important role in the biological control of phytopathogens. In this sense, *Trichoderma* genus is the most used for the biocontrol of soil fungus pathogens. These species present different action ways or mechanisms to carry out the control of phytopathogens. Among them are: competition for substrate, mycoparasitism, antibiosis, desactivation of enzymes of the pathogen, induced resistance, among others. While higher is the probability of a *Trichoderma* isolate to show several action ways, more efficient and lasting the control of the pathogen will be, aspects not being present in chemical pesticides. In the article, authors intend to carry out a compilation on the ways of action of *Trichoderma* against pathogens.

(Key words: *Trichoderma*; antagonism; biocontrol)

INTRODUCCIÓN

En el mundo se conoce un grupo importante de hongos y bacterias que presentan efecto antagónico sobre otros microorganismos. Este efecto es aprovechado por el hombre para la regulación, tanto de patógenos cuyo hábitat es el suelo, como aquellos que se desarrollan en la parte foliar de las plantas (1,2,3,4).

Los antagonistas contribuyen a la atenuación de los daños que causan las enfermedades, en los agroecosistemas donde existan condiciones para su desarrollo y conservación. Para lograr este objetivo los microorganismos beneficiosos presentan diferentes modos de acción que les permitan ejercer su efecto biorregulador. Estos atributos, de conjunto con la capacidad de multiplicarse abundantemente, se encuentran entre los de mayor importancia para su selección como agentes de control biológico (4).

Desde los primeros estudios en esta temática y hasta el presente, entre las especies más ampliamente estudiadas y aplicadas como control biológico, se encuentran las del género *Trichoderma*, debido a su eficaz control, capacidad reproductiva, plasticidad ecológica, efecto estimulante sobre los cultivos y recientemente se detectó su acción como inductor de resistencia sistémica en la planta a diferentes patógenos (5,6).

Trichoderma Rifai como un controlador biológico y antagonista natural de fitopatógenos muestra una amplia gama de hospedantes y dentro de ellos están los hongos fitopatógenos de importancia, tales como: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F. Smith) Snyd.y Hans, *Fusarium roseum* Link, *Botrytis cinerea* Pers, *Rhizoctonia solani* Kühn, *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Sclerotinia* spp., *Pythium* spp. *Phytophthora* spp., *Alternaria* spp., entre otros.

El objetivo de esta reseña fue realizar una recopilación y análisis de la información relacionada con los diferentes mecanismos de acción de los aislamientos de *Trichoderma*, los cuales ejercen su actividad antagonica sobre los fitopatógenos.

PARTE ESPECIAL

Aspectos generales de *Trichoderma*

Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* se caracterizan por ser hongos saprófitos, que sobreviven en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica, los cuales son capaces de descomponerla y en determinadas condiciones pueden ser anaerobios facultativos, lo que les permite mostrar una mayor plasticidad ecológica. Las especies de *Trichoderma* se encuentran presentes en todas las latitudes, desde las zonas polares hasta la ecuatorial. Esta distribución tan amplia y su plasticidad ecológica están estrechamente relacionadas con la alta capacidad enzimática que poseen para degradar sustratos, un metabolismo versátil y resistencia a inhibidores microbianos. No obstante, se han realizado pocos estudios acerca de la sobrevivencia, establecimiento y proliferación de este antagonista en la rizosfera de la planta (7).

El género *Trichoderma* es un excelente modelo para ser estudiado debido a su fácil aislamiento y cultivo, rápido desarrollo en varios sustratos y por su condición de controlador biológico de una amplia gama de fitopatógenos (4). *Trichoderma* se ubica taxonómicamente según Villegas (8) en:

Reino: Fungi.

División: Mycota

Subdivisión: Eumycota

Clase: Hyphomycetes.

Orden: Moniliales.

Familia: Moniliaceae.

Género: *Trichoderma*.

La mayoría de las colonias de *Trichoderma* en su inicio tienen color blanco, que se tornan a verde oscuro o amarillento, con esporulación densa (9). El micelio es ralo en su mayoría, y visto al microscopio es fino, los conidióforos son ramificados, parecen un árbol pequeño. Los mismos se presentan como penachos compactados que forman anillos con un sistema de ramas irregular de manera piramidal (Fig. 1). Estos terminan en fiálides donde se forman las esporas asexuales o conidios, de gran importancia para la identificación taxonómica a nivel de especies. Los conidios aseguran las generaciones del hongo durante gran parte del período vegetativo de las plantas (9). Son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucanos (3). Además de los conidióforos, estas se pueden producir sobre fiálides que emergen directamente del micelio.

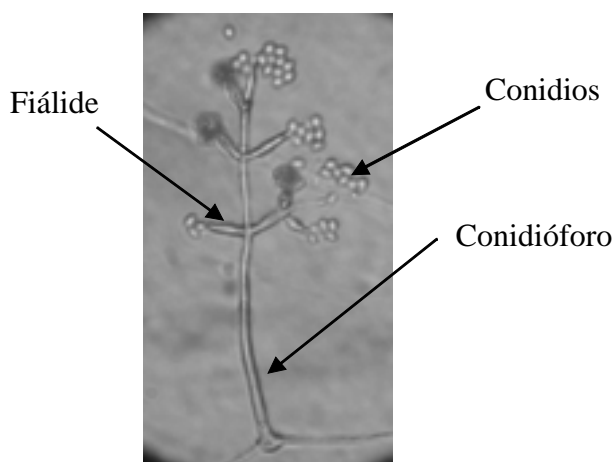


FIGURA 1. Conidios y conidióforos de *Trichoderma* sp./ *Trichoderma* sp. conidia and conidiophores. (400 x).

La mayoría de las especies de *Trichoderma* presentan clamidosporas, las cuales pueden ser intercalares y en ocasiones terminales. Las clamidosporas toleran condiciones ambientales adversas, son estructuras de sobrevivencia y permiten que el hongo pueda perdurar a través del tiempo (10).

No obstante, las clamidosporas recién formadas presentan más de 75% de germinación, bajo condiciones óptimas de humedad (> 75%) y temperatura (28-30°C). Debido a esto se dice, que las especies de *Trichoderma* produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios (11).

Mecanismos de acción de *Trichoderma*

En la acción biocontroladora de *Trichoderma* se han descrito diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos dianas. Entre estos, los principales son la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis, los que tienen una acción directa frente al hongo fitopatógeno, Leal (2000) citado por Lorenzo (12). Estos mecanismos se ven favorecidos por la habilidad de los aislamientos de *Trichoderma* para colonizar la rizosfera de las plantas. Otros autores han sugerido distintos mecanismos responsables de su actividad biocontroladora, que incluyen, además de los mencionados, la secreción de enzimas y la producción de compuestos inhibidores (13,14).

Además se conoce que *Trichoderma* presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora es de forma indirecta. Entre estos se pueden mencionar los que elicitán o inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos como es la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (Inducción de Resistencia) (6), con la detoxificación de toxinas excretadas por patógenos y la desactivación de enzimas de estos durante el proceso de infección; la solubilización de elementos nutritivos, que en su forma original no son accesibles para las plantas. Tienen la capacidad además, de crear un ambiente favorable al desarrollo radical lo que aumenta la tolerancia de la planta al estrés (3).

Competencia

La competencia constituye un mecanismo de antagonismo muy importante. Se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (15,16).

La presencia de forma natural de *Trichoderma* en diferentes suelos (agrícolas, forestales, en barbechos), se considera una evidencia de la plasticidad ecológica

de este hongo y de su habilidad como excelente competidor por espacio y recursos nutricionales, aunque la competencia depende de la especie, Wardle *et al.* (1993) citados por Samuel (17). *Trichoderma* está biológicamente adaptado para una colonización agresiva de los sustratos y en condiciones adversas para sobrevivir, fundamentalmente, en forma de clamidosporas. La alta velocidad de crecimiento, abundante esporulación y la amplia gama de sustratos sobre los que puede crecer, debido a la riqueza de enzimas que posee, hacen que sea muy eficiente como saprófito y aún más como agente de control biológico (16,18).

La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros) (10,19) y microelementos. Esta forma de competencia en los suelos o sustratos ricos en nutrientes no tiene importancia desde el punto de vista práctico. Por ello, cuando se emplea fertilización completa o existe exceso de algunos de los componentes de los fertilizantes e inclusive en suelos con alto contenido de materia orgánica, este tipo de antagonismo es poco eficaz.

La competencia por sustrato o espacio depende de si el mismo está libre de patógenos (sustrato estéril) o si hay una microbiota natural. En el primer caso, la velocidad de crecimiento del antagonista no determina la colonización efectiva de los nichos, sino la aplicación uniforme del mismo en todo el sustrato. Sin embargo, en el segundo caso la velocidad de crecimiento, conjuntamente con otros de los mecanismos de acción del antagonista, es determinante en el biocontrol del patógeno y colonización del sustrato.

Un ejemplo fehaciente de estas interacciones es el notificado por Durman *et al.* (21), quienes encontraron una disminución del crecimiento de *R. solani* y de la viabilidad de los esclerocios por la acción de diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp.

Micoparasitismo

El micoparasitismo es definido como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados (11,22,23,24).

Las especies de *Trichoderma* durante el proceso de micoparasitismo crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del

proceso parasítico (25), que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno.

El micoparasitismo como mecanismo de acción antagónica en *Trichoderma* spp. ha sido ampliamente estudiado, Chet *et al.* (1998) citados por Pérez (18). No obstante, existen aspectos en el mismo que no están totalmente esclarecidos. Este es un proceso complejo que para su estudio se ha separado en cuatro etapas. El desarrollo de cada etapa depende de los hongos involucrados, de la acción biotrófica o necrotrófica del antagonista y de las condiciones ambientales. Chet y Benhamou (26), explican detalladamente cada una de estas etapas, para el caso de las especies de *Trichoderma*.

Crecimiento quimiotrófico: El quimiotropismo positivo es el crecimiento directo hacia un estímulo químico (27). En la etapa de localización del hospedante, se ha demostrado que *Trichoderma* puede detectarlo a distancia y sus hifas crecen en dirección al patógeno como respuesta a un estímulo químico.

Reconocimiento: Las investigaciones realizadas a lo largo de muchos años con un número considerable de cepas de *Trichoderma* y de especies de hongos fitopatógenos han demostrado que estas son efectivas sólo contra patógenos específicos. El conocimiento de esta especificidad condujo a la idea de que el reconocimiento molecular entre *Trichoderma* y el hospedante es el evento esencial que precede al proceso antagonista (26). Esto es un elemento a tener en cuenta para la aplicación práctica de este hongo, y para la búsqueda de nuevos aislamientos más adaptados y eficaces como un proceso continuo.

El reconocimiento se realiza a través de interacciones lectinas-carbohidratos. Las lectinas son proteínas enlazadas a azúcares o glicoproteínas, las cuales aglutinan células y están involucradas en las interacciones entre los componentes de la superficie de las células y su ambiente extracelular, Barondes (1981) citado por Chet *et al.* (26). La producción de lectinas se ha investigado en *R. solani* y *S. rolfisii*. En todos los casos se encontraron evidencias directas, de que las lectinas están involucradas en el micoparasitismo (18,27).

Adhesión y enrollamiento: Cuando la respuesta de reconocimiento es positiva, las hifas de *Trichoderma* se adhieren a las del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorios (Fig. 2), se enrollan alrededor de estas, todo esto está mediado por procesos enzimáticos (18). Según Chet y Elad (1983), citado por Martínez (20), la adherencia de las hifas de *Trichoderma* ocurre gracias a la asociación de un azú-

car de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno.

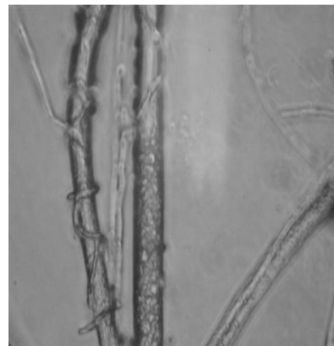


FIGURA. 2 Hifas de *Trichoderma* sp. enrolladas en hifas de *Curvularia* sp./ *Trichoderma* hyphae coiled in *Curvularia* sp. hyphae. (400x).

Actividad lítica: En esta etapa ocurre la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista (28). Por los puntos de contacto donde se produce la lisis y aparecen los orificios, penetra la hifa del micoparásito en las del hongo hospedante. La actividad enzimática en *Trichoderma* ha sido estudiada extensamente, así como las posibles funciones que desenvuelven en el micoparasitismo.

Las especies de *Trichoderma* tienen un elevado potencial parasítico (Fig. 3), con una actividad metabólica muy particular, que les permite parasitar eficientemente las estructuras fúngicas de los hongos (1).

Trichoderma excreta muchos metabolitos dentro de ellos enzimas (celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas) que participan en la lisis de la pared celular de las hifas del hospedante, facilitando la inserción de estructuras especializadas y de hifas de *Trichoderma*, que absorben nutrientes del interior del hongo fitopatógeno (19). Misaghi (1984) y Adams (1990) citados por Díaz (11), plantearon que el micoparasitismo finalmente termina con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula del hospedante. El citoplasma restante está principalmente rodeando las hifas invasoras, mostrando síntomas de disgregación, lo que disminuye la actividad patogénica del mismo.

Desde el punto de vista práctico las enzimas se tienen en cuenta como criterio en la selección de aislamientos. Elad *et al.* (29), encontraron que los aislamientos de *Trichoderma* eficaces en el control de

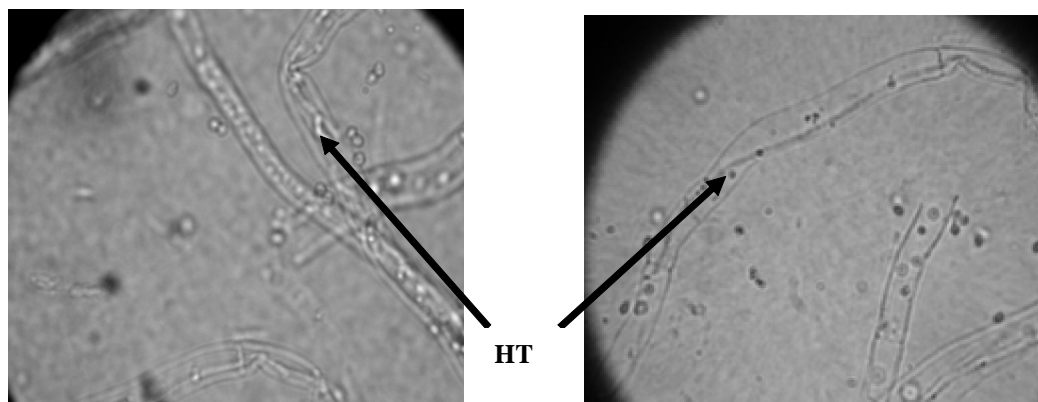


FIGURA 3. Micoparasitismo de *Trichoderma* sp. en *Rhizoctonia* sp./ *Micoparasitism of Trichoderma on Rhizoctonia* sp. HT. Hifas de *Trichoderma*. (400x).

patógenos vegetales eran capaces de producir glucanasas, quitinasas y proteasas, por lo que recomienda que los aislamientos de *Trichoderma* spp. pueden ser seleccionados como agentes de control biológico en base a su capacidad de producir β -1,3-D glucanasa y quitinasa en presencia de glucano y quitina, respectivamente.

Por los resultados que se han obtenido hasta el momento, se ha llegado a la conclusión que la producción del factor inhibidor en *Trichoderma* depende más del aislamiento que de la propia especie. Aspecto este, que reafirma una vez más la búsqueda constante de nuevos aislamientos de este antagonista (11).

Liu y Baker (1980) citados por Díaz (11), plantearon que el micoparasitismo de *Trichoderma* sobre *R solani* es el responsable de la disminución de la densidad de inóculo de este patógeno y que se corresponde con un incremento en la densidad de población de *Trichoderma* sp.

Diferentes autores han informado para *Trichoderma* diferentes tipos de interacción hifal como parasitismo, considerándolos una potencialidad para su uso como biorreguladores de hongos del suelo (30, 31). Bernal (30), encontró enrollamiento y penetración de hifas de *Trichoderma* en hifas de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. Harman (32), encontró penetración en hifas de *Pythium* sp. y *R. solani*. Rivero *et al.* (33), evaluaron cuatro aislamientos de *Trichoderma* sobre *Alternaria padwickii* (Ganguly) Ellis, *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn y *Phoma* sp. y obtuvieron una alta capacidad competitiva, con dos o más tipos de interacción hifal, excepto en *Phoma* sp.

Antibiosis

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos. Algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistentes al antibiótico (34). En la práctica uno de los antecedentes ha sido el caso de la aparición de cepas de *Agrobacterium tumefaciens* Smith y Townsend resistentes al Agrosin 84, un antibiótico producido por una cepa de *Agrobacterium radiobacter* Beijerinck y van Delden (35).

Muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico. Tales sustancias inhibitoras son consideradas "antibióticos" (16).

Al inicio se estimó que la actividad inhibitora de aislamientos de *Trichoderma* sobre otros hongos se debía solo a compuestos no volátiles. Dennis y Webster (36), fueron los pioneros en esta temática, con la realización de los trabajos más completos acerca de la función de los antibióticos producidos por hongos del género *Trichoderma* sobre patógenos de las plantas. Ellos relacionaron la actividad antibiótica de *Trichoderma* spp. con compuestos no volátiles, entre los que se encontraban uno identificado como trichodermina y otros metabolitos peptídicos. En investigaciones posteriores Webster y Lomas (1964) citados por Díaz (11), determinaron que *Trichoderma* sp. produce dos antibióticos más: gliotoxina y viridina. Más tarde Oliver y Germain (37) citado por Martínez

(37), informaron que *T. harzianum* Rifai produce numerosos antibióticos como son: trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina.

Posteriormente, Dennis y Webster (36), detectaron que la actividad antibiótica de algunos aislamientos se debía también a la producción de compuestos volátiles, y notaron que los aislamientos más activos poseían un fuerte olor a coco, posiblemente relacionado con la actividad antagonista. Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático, debilitando al patógeno y lo hacen más sensible a los antibióticos no volátiles, lo que se conoce como un "hiperparasitismo" de origen enzimático (20).

Stefanova *et al.* (10), informaron la presencia de metabolitos no volátiles con actividad antifúngica en cuatro aislamientos de *Trichoderma* y concluyeron que los mismos reducen el crecimiento micelial de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan y *R. solani* en medios de cultivo envenenado con filtrados líquidos donde se habían cultivado las cepas antagonistas. Plantean además, que al parecer estos causan a nivel celular: vacuolización, granulación, coagulación, desintegración y lisis. Por otro método, Rivero *et al.* (33), evaluaron el efecto de antibiosis de dos aislados de *Trichoderma* en cultivo dual con *A. padwickii*, *B. oryzae*, *C. lunata* y *Phoma* sp., obteniendo inhibición significativa del crecimiento radial de estos patógenos.

Algunas de las enzimas no solo intervienen en el proceso de penetración y lisis, sino que actúan también como antibióticos, tal es el caso de la enzima endoquitinasa (Ech42) que causa hidrólisis en las paredes de *B. cinerea*, y además inhibe la germinación de conidios y el crecimiento de tubos germinativos de varios hongos (25).

La producción metabólica de los aislamientos de *Trichoderma* presenta, al igual que el micoparasitismo, determinada especificidad. Samuels (17), informa sobre un grupo de cepas de *Trichoderma* denominado "Q" que produjeron gliotoxina y fueron efectivas frente a *R. solani*, pero no frente a *Pythium ultimum* Trow; mientras que otro grupo de cepas "P", que excretaron gliovirina mostraron resultados opuestos.

No obstante, la máxima eficacia pudiera lograrse con el sistema enzimático completo (22), inclusive la selección tiene que ser más integral, donde intervengan diferentes modos de acción. Por ejemplo, Martínez *et al.* (38), observaron al evaluar 59 aislamientos de *Trichoderma*, competencia por el sustrato, micoparasitismo y antibiosis. En casi todos los aisla-

mientos determinaron al menos un tipo de interacción hifal bien definida, y algunos de ello presentaron hasta cuatro tipos de interacción sobre *R. solani*. Esto favorece el control por un lado y disminuye la posibilidad de que surja resistencia en el patógeno al antagonista (34).

CONCLUSIONES

De este estudio se resalta la importancia que tiene el conocimiento profundo de los mecanismos de acción que pueden presentar los diferentes aislamientos de *Trichoderma*. Este conocimiento es vital desde el punto de vista práctico, debido a que permite una adecuada y mejor selección de aislamientos con mayor potencialidad para el control de diferentes fitopatógenos. Mientras más modos de acción estén presentes en un aislamiento, mayor será la eficacia del mismo en el control del fitopatógeno, y por ende, menor el daño que puede causarle al cultivo.

REFERENCIAS

1. Sandoval Ileana, López M. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* A-34 hacia *Macrophomina phaseoli* y otros patógenos fúngicos del fríjol. *Fitosanidad*. 2002;4(3-4):69-72.
2. Ruiz L, Leguizaman LC. Efecto del contenido de materia orgánica del suelo sobre el control de *Rosellinia borodes* con *Trichoderma* spp. *Cenicafé*. 1996;47(4):179-186.
3. Harman G. *Trichoderma harzianum*, *T. viridis*, *T. koningii*, *T. hamatum* (Deuteromycetes: Moniliales). 2003. (Consultado: 2 feb 2007). Disponible en: <http://www.ibun.unal.edu.co/r2r7e.html>.
4. Fernández LO. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas*. 2001;62:96-100.
5. Cervantes A. Microorganismos del suelo beneficiosos para los cultivos. 2007. (Consultado: 16 feb 2007). Disponible en: http://infoagro.comhortalizasmicroorganismos/beneficiosos_cultivos.htm.
6. Harman GE. Mythos and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derive from research on *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Dis*. 2004;84:377-393.

7. Rodríguez. I. Efecto antagónico de ocho aislamientos de *Trichoderma* contra *Fusarium moniliforme* (Booth) y *Fusarium subglutinans* (Booth). Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo Universidad Agraria de La Habana, 1990.
8. Villegas MA. *Trichoderma* Pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. 2005. Orius Biotecnología. Colombia. (Consultado: 28 oct 2008). Disponible en: <http://www.oriusbiotecnologia.com/site/index.php?id=20,66,0,0,1,0>.
9. Rifai M A. A revision of the genus *Trichoderma*. Res Mycol. 1969; 116:1-56.
10. Stefanova M, Leiva A, Larriganaga L, Coronado MF. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Revista Facultad de Agronomía. 1999;16:509-516.
11. Díaz J. Algunos aspectos biológicos de *Trichoderma* y su posible uso como biocontrol. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria de La Habana. 1994.
12. Lorenzo N. Prospección de hongos antagonistas en la provincia de Cienfuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. Tesis en opción al título de Master en Protección Vegetal Universidad Agraria de La Habana. 2001.
13. Haram S, Schickler H, Oppenheim A, Chet I. Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. Phytopathol. 1996;86:980-985.
14. Zimand G, Elad Y, Chet I. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. Phytopathol. 1996;86:125-126.
15. Ahmad JS, Baker R. Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*. Phytopathol. 1987;77: 182-189
16. Hjeljord L, Tronsmo A. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman GE, Kubice CP. (Eds). Volumen 2. p.131-151. Taylor & Francis. 1998.
17. Samuels GJ. *Trichoderma*: a review of biology and systematic of the genus. Mycol Res. 1996;100(8):923- 935.
18. Pérez N. Manejo Ecológico de plagas. CEDAR: La Habana. Cuba. 2004. 296 pp.
19. Eveleigh DE, Demain AL, Solomon N. *Trichoderma*. Biology of industrial microorganisms. 1986. Biotech Ser. (Ed). Cap.16: 489-500.
20. Martínez B, Fernández L, Solano T. Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. Cultivos Tropicales. 1994;15(3):54.
21. Durman S, Menéndez A, Godeas A. Evaluación de *Trichoderma* spp. como antagonista de *Rhizoctonia solani* "in vitro" y como biocontrolador del damping off de plantas de tomate en invernadero. Revista Argentina de Microbiología. 2003;31(1):13-18.
22. Lorito M, Harman G, Prieto A Di, Hayes C. Extracellular chitinolytic enzymes produced by *T. harzianum*, purification, characterization and molecular cloning. Phytopathol. 1990;82(10):10-77.
23. Melgarejo P, Sagasta E. Influence of *Penicillium frequentans* and two of its antibiotics on production of stomata by *Monilinia laxa* in culture. Can. J. Bot. 1989;67:83-87.
24. Ulloa CJ. Enzimas micolíticas produzidas pelo agente de biocontrole *Trichoderma harzianum*. En: Actas del V de Simposio de controle biológico. Anais: Conferencias y Palestras. Foz de Iguacu-Parana-Brasil. 1996;234-238.
25. Carsolio Carolina, Benhamou N, Haran S, Cortés C, Gutierrez Ana, Chet I, Herrera-Estrella A. Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. Appl Environ Microbiol. 1999;65:929-935.
26. Chet I, Benhamou SH. Mycoparasitism and lectin enzymes. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial*

- applications. Harman GE, Kubice CP. (Eds.). Volumen 2. p.153-152. Taylor & Francis Ltd., London, UK. 1998.
27. Chet I, Inbar J. Biological control of fungal pathogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 1994;48:37-43.
28. Haram S, Schickler HL, Chet I. Molecular mechanisms of lictin enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology*. 1996;142:2321-2331.
29. Elad Y, Chet I, Boyle P, Hennies Y. Parasitism of *Trichoderma* sp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathol*. 1983;73:78.
30. Bernal A, Andreu C, Moya M. Utilización de *Trichoderma* spp. como alternativa ecológica para el control de *Fusarium oxysporum* sp. *cubense* (EF Smith) Snyd & Hans. Cuba. 2004 (Consultado: 22 abr 2007). Disponible en: <http://www.virtualcentr.org/es/enLIBTJ%20Tallr/bernalalezander.htm>.
31. Correa FJ. Principales enfermedades del arroz. MIP en arroz. Manejo integrado de plagas. Artrópodos, enfermedades y malezas. 1997. Fundación Polar Venezuela, FEDEARROZ Colombia, FLAR, CIAT, Caracas, Venezuela. 123-141 pp.
32. Harman EG. *Trichoderma* spp., including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, moniliales (asexual classification system) 2001. (Consultado: 12 feb 2007). Disponible en: <http://www.birdhybrids.com/t-22.htm>.
33. Rivero Deyanira. Identificación y control *in vitro* con quitosana y *Trichoderma* spp. de hongos que causan el manchado del grano en arroz (*Oryza sativa* L.). *Rev Protección Veg*. 2008;23(1): 67.
34. Vero SM, Mondino P. Control biológico postcosecha en Uruguay. *Horticultura Internacional*. 1999;7:1-10.
35. Campbell R. Biological control of microbial plant pathogens. Cambridge University Press. Cambridge. 1989; 218p.
36. Dennis L, Webster J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III Hyphal interaction. *Trans Br Mycol Soc*. 1971;57:363-369.
37. Martínez J T. Uso de *Trichoderma* para el Control Biológico de Organismos Patógenos de Plantas. En Memorias del Simposium sobre Agricultura Orgánica y de baja residualidad. Cuautémoc, Chih. México; 2 de julio 1998, 25-27p.
38. Martínez B, Reyes Yusimy, Infante Danay, González E, Baños Heyker, Cruz A. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. *Rev Protección Veg*. 2008;23(2):118-125.

(Recibido 29-11-2007; Aceptado 30-10-2008)