

Antagonismo *in vitro* de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a aislados de *Fusarium* spp.

In vitro antagonism of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg, against *Fusarium* spp. isolates

Yanisia Duarte-Leal¹✉, Lisset Pozo-Martínez², Benedicto Martínez-Coca¹✉

¹Laboratorio de Micología Vegetal, Grupo de Fitopatología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, CP 32 700, Mayabeque, Cuba.

²Universidad de la Habana, Facultad de Biología, La Habana.

RESUMEN: El objetivo del trabajo fue determinar la actividad antagónica de 13 cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a dos aislamientos de *Fusarium* (*Fusarium dlamini* Marasas, Nelson & Toussoun y *Fusarium solani* (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen) procedentes de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Se determinaron la antibiosis, la competencia por espacio y el micoparasitismo por el método de cultivo dual. Todas las cepas de *T. asperellum* evaluadas, con excepción de *Ta.* 78, inhibieron el crecimiento de los fitopatógenos a partir de las 48 h. Las cepas del antagonista, excepto *Ta.* 3 que se ubicó en la clase 2, se ubicaron en la clase 1 de la escala de Bell. Las cepas *Ta.* 1 y *Ta.* 79 presentaron los mayores porcentajes de inhibición del crecimiento de los fitopatógenos, con valores máximos de 44 - 47 % y 41- 48,72 % para *F. dlamini* y *F. solani*, respectivamente, y la mayor cantidad de interacciones hifales. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de los modos de acción, se seleccionaron a las cepas *Ta.* 1 y *Ta.* 79 como promisorias para el control biológico de este fitopatógeno.

Palabras clave: cultivo dual, fitopatógeno, modo de acción.

ABSTRACT: The objective of the work was to determine the antagonistic activity of 13 strains of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg against two isolates of *Fusarium* (*Fusarium dlamini* Marasas, Nelson & Toussoun and *Fusarium solani* (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen) of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Antibiosis, competition for space, and mycoparasitism were determined by the dual culture method. All strains of *T. asperellum* evaluated, with the exception of *Ta.* 78, inhibited the growth of phytopathogens after 48 h. The antagonist strains, except *Ta.* 3 that was placed in class 2, were grouped into class 1 of Bell's scale. The *Trichoderma* strains showed the highest percentages of growth inhibition of the phytopathogens with the highest number of hyphal interaction types in *Ta.* 1 with *F. dlamini* (44-47 %) and *Ta.* 79 with *F. solani* (41- 48.72 %). According to the results of their mode of action, the strains *Ta.* 1 and *Ta.* 79 were selected as promising for the biological control of these phytopathogens.

Key words: dual culture, phytopathogens, action mode.

✉ Autor para correspondencia: Yanisia Duarte-Leal. E-mail: yanisia@censa.edu.cu

✉ Autor para correspondencia: Benedicto Martínez-Coca. E-mail: bmcoca@censa.edu.cu

Recibido: 25/10/2017

Aceptado: 17/4/2018

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa más investigada en América Latina, por ser la fuente principal de proteínas y formar parte de los hábitos alimentarios de la población (1).

El rendimiento a nivel mundial del frijol en 2014 fue de 0,83 t.ha⁻¹ (2). En Cuba, en ese mismo año, hubo un rendimiento promedio de 1,01 t.ha⁻¹, pero distante de las potencialidades productivas de ese cultivo (3).

La presencia de enfermedades se encuentra entre las causas principales de afectación de la producción de este cultivo. De estas, las más importantes son las ocasionadas por patógenos cuyo hábitat es el suelo, entre las que se encuentran *Fusarium* spp., *Sclerotium* sp. y *Rhizoctonia* sp., entre otros (4, 5).

Fusarium es uno de los géneros de fitopatógenos más diseminados en Cuba y el mundo, causante de pérdidas en los rendimientos y de la calidad del frijol. La infección por este hongo puede ocurrir durante toda la fenología del cultivo, provoca marchitez y pudriciones en la raíz y el tallo. Los síntomas son más severos cuando las condiciones del suelo son pobres, compactados, con poco drenaje y bajo contenido de materia orgánica (6).

El control de la Fusariosis del frijol es difícil, debido a la variabilidad de especies de este hongo que afectan al cultivo, la carencia de productos químicos eficientes y a que, frecuentemente, cuando aparecen los síntomas de la enfermedad, la aplicación de productos es tardía (7). Es por ello que el conocimiento de la biología del patógeno y su interacción con el hospedante, así como la selección de cepas promisorias de *Trichoderma* spp. por sus varios mecanismos de acción y su efecto preventivo, son aspectos importantes para el desarrollo de programas de manejo integrado de la enfermedad (8).

El Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) posee cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt

& Nirenberg, identificadas y caracterizadas morfofisiológica, patogénica y molecularmente, las cuales sobresalen por su elevado efecto biológico frente a diferentes patógenos (9, 10).

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la actividad antagonista de 13 cepas de *T. asperellum*, frente a dos aislamientos de *Fusarium* [*Fusarium dlamini* Marasas, Nelson & Toussoun y *Fusarium solani* (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen] aislados de frijol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se desarrollaron en el Laboratorio de Micología Vegetal del CENSA, situado en el municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba.

Se utilizaron 13 cepas de *T. asperellum* registradas como: *Ta.* 1, *Ta.* 3, *Ta.* 12, *Ta.* 13, *Ta.* 17, *Ta.* 25, *Ta.* 28, *Ta.* 56, *Ta.* 75, *Ta.* 78, *Ta.* 79, *Ta.* 85 y *Ta.* 90, procedentes del mismo laboratorio, y dos aislados de *Fusarium*: *F. dlamini* y *F. solani*, altamente virulentos en frijol.

Las cepas del antagonista se multiplicaron en medio de cultivo Agar Malta (tres días a 28±2°C), y los aislados de *Fusarium* spp. en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) (7 días a 25±2°C) en placas de 90 mm de Ø, ambos en oscuridad constante. De estos cultivos, se obtuvieron discos de 6 mm de diámetro de la periferia de las colonias del antagonista y del patógeno. Se sembraron diametralmente, a una separación del borde de las placas (90 mm de Ø) de 5 mm, que contenían medio de cultivo PDA, incubadas a 25±2°C y en oscuridad constante. El antagonismo de las cepas de *Trichoderma* se determinó por el método de cultivo dual (CD), según lo descrito por Martínez y Solano (11).

Se emplearon tres réplicas por tratamiento y un control de cada aislamiento del fitopatógeno, sembrado e incubado en similares condiciones, pero sin el antagonista, y se realizaron dos repeticiones del ensayo.

La antibiosis se evaluó mediante la medición del crecimiento lineal (mm) con una regla graduada, comparando el desarrollo de los aislados de *Fusarium* en el CD con el del control (sin *T. asperellum*) antes del contacto hifal entre ambos hongos (*Fusarium* spp.-*T. asperellum*).

La competencia por el espacio se determinó al comparar el crecimiento de los aislamientos de *Fusarium* spp. en CD con el del control. Las evaluaciones se hicieron a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas, midiendo el crecimiento lineal (mm) de ambos hongos con una regla graduada hasta que uno de los dos completara el área de la placa. El antagonismo se determinó según la Escala de Clase referida por Bell *et al.* (12).

Se evaluaron tres réplicas por cada tratamiento y se incluyó un control de cada aislamiento de *Fusarium* (sin *T. asperellum*). Se determinó el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) mediante la fórmula de Samaniego *et al.* (13):

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

Donde:

r1 - Crecimiento radial de la colonia del fitopatógeno en el tratamiento control.

r2 - Crecimiento radial del aislamiento patógeno enfrentado al antagonista.

Para el estudio del micoparasitismo, se realizaron preparaciones (tres por tratamiento) de la zona de contacto entre ambos hongos a las 144 h. Se observaron al microscopio óptico, modelo N-800M (400X), para determinar el tipo de interacción hifal (vacuolización, granulación, enrollamiento, lisis o penetración) según los criterios de Chet *et al.* (14). Las observaciones se documentaron mediante fotos con una cámara digital (SONY).

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

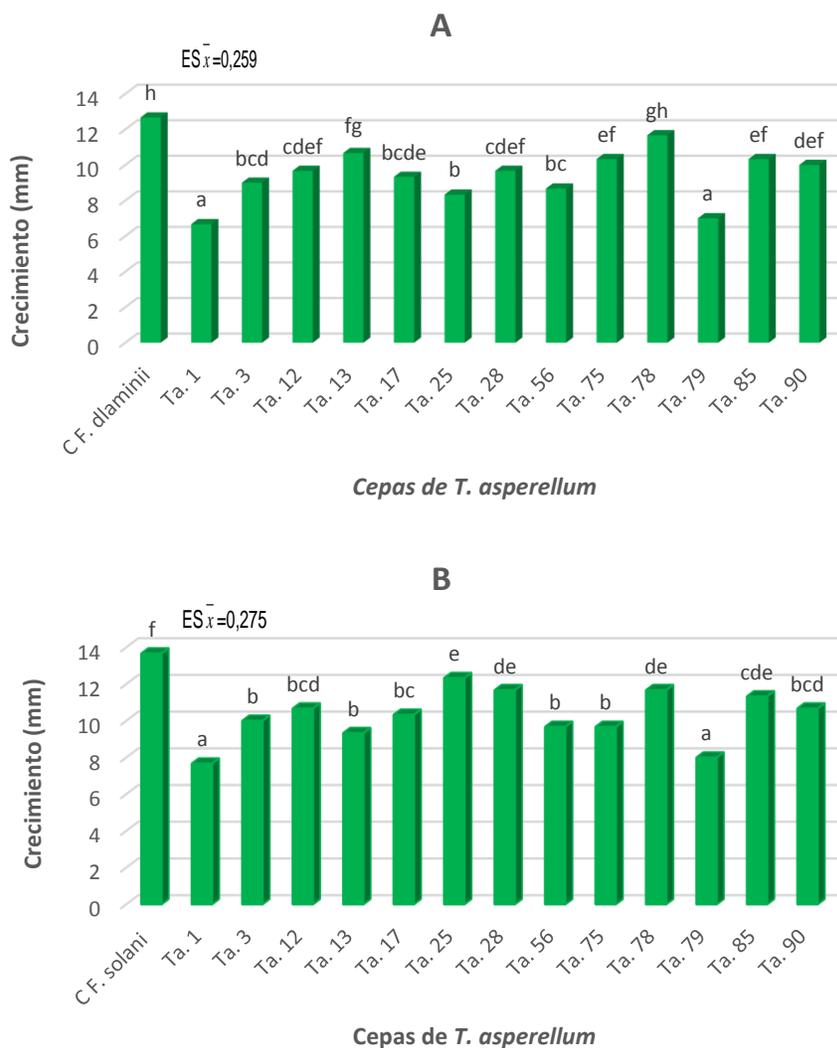
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayoría de las cepas de *T. asperellum* inhibieron significativamente el crecimiento de los fitopatógenos desde las 48 h, en comparación con el control, excepto la cepa *Ta.* 78 que no inhibió de forma significativa el crecimiento de *F. dlaminii*. Las cepas *Ta.* 1 y *Ta.* 79 provocaron la mayor inhibición del desarrollo de los dos aislamientos de *Fusarium* (*F. dlaminii* y *F. solani*), con diferencias significativas con las restantes cepas (Fig.1).

Esto es una evidencia de que la excreción de metabolitos difusibles en el entorno, por estas cepas, ocurre desde periodos muy tempranos de la interacción. La acción de estos metabolitos producidos por las cepas de *Trichoderma* se evidenció a partir de las 48 horas, cuando se observó una reducción del crecimiento de las colonias de los tratamientos, en comparación con el control, a medida que transcurrieron los días. (Fig. 2)

Al inicio se consideró que la actividad inhibitoria de cepas de *Trichoderma* sobre otros patógenos se debía a los compuestos no volátiles; no obstante, se demostró que en este mecanismo intervienen también compuestos volátiles (4,15). En el caso de las cepas de *T. asperellum* estudiadas, frente a los aislamientos de *Fusarium* spp., se desconoce el (los) tipo (s) de metabolitos involucrado (s) en el efecto de antibiosis, volátiles o no, o ambos. Aspecto que se debe esclarecer en futuras investigaciones.

Es posible que la causa de los resultados del presente trabajo se relacione con lo planteado por Reina *et al.* (16), quienes informaron que existen especies de *Trichoderma*, como *Trichoderma harzianum* Rifai, que produce una gama de antibióticos (trichodermina, suzukacilina, alamethicina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina) que participan en la inhibición del crecimiento de los fitopatógenos.



Medias con letras diferentes difieren significativamente, según Duncan ($p \leq 0,05$).
FIGURA 1. Inhibición del crecimiento de *F. dlaminii* (A) y *F. solani* (B) a las 48 h por el efecto de las cepas de *T. asperellum*. / Inhibition of the growth of *F. dlaminii* (A) and *F. solani* (B) at 48 h by the effect of *T. asperellum* strains.

Todas las cepas de *T. asperellum* se ubicaron en la clase 1 de la escala de Bell *et al.* (12), excepto *Ta. 3* que se ubicó en la clase 2.

Resultados similares obtuvo Echevarría (17), quien notificó en la clase 1 a cuatro cepas de *T. asperellum* (*Ta.13*, *Ta.17*, *Ta.78* y *Ta.90*) frente a *Fusarium nygamai* Burgess & Trimboli y *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *ciceri* (Padwik) Matuo & K. Sato, respectivamente.

Las cepas de *T. asperellum* crecieron más rápido que los dos aislamientos del fitopatógeno. Esta superioridad competitiva por espacio, respecto a *Fusarium* spp., contribuyó a limitar el crecimiento del patógeno, en comparación con los controles (Fig. 3).

Los resultados tienen similitud con los informados por Sánchez *et al.* (18), quienes notificaron la rápida colonización del medio de cultivo por dos cepas: *T. harzianum* y

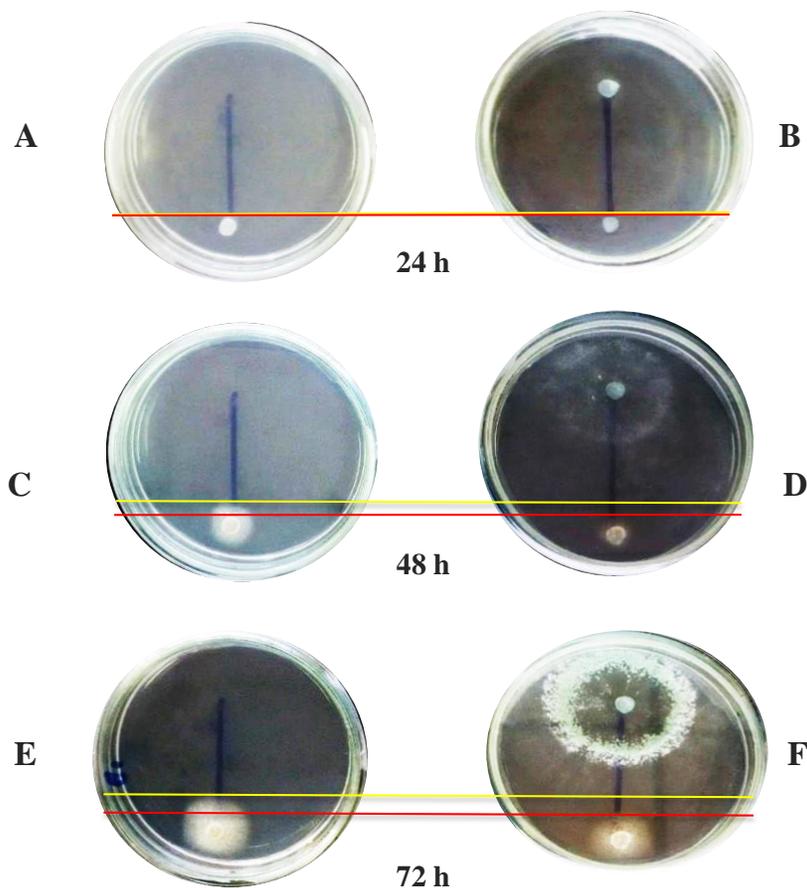


FIGURA 2. Crecimiento del aislado *F. dlaminii* en cultivo dual con la cepa *Ta. 79* a las 24 h, 48 h y 72 h (B, D y F) comparado con el control (A, C y E). Línea amarilla indica crecimiento del fitopatógeno en el control y roja del fitopatógeno en el tratamiento. / *Growth of the isolate F. dlaminii* in dual culture with strain *Ta. 79* at 24 h, 48 h and 72 h (B, D and F) compared with the control (A, C and E). Phytopathogen growth is indicated by the yellow line in the control plates and by the red line in the dual culture plates.

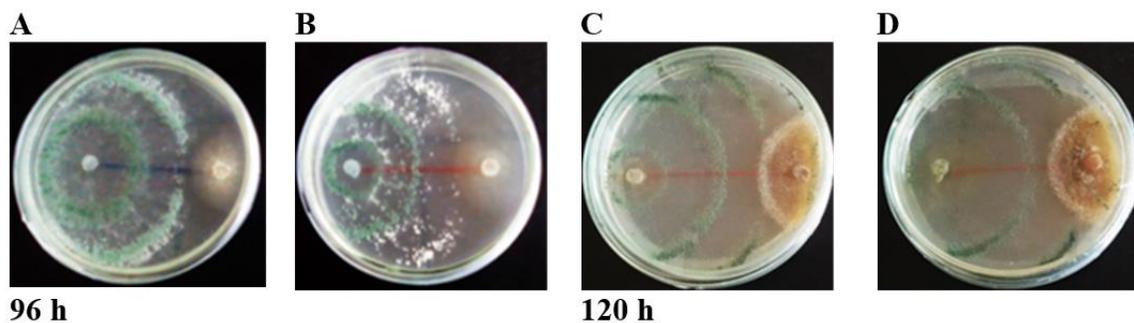


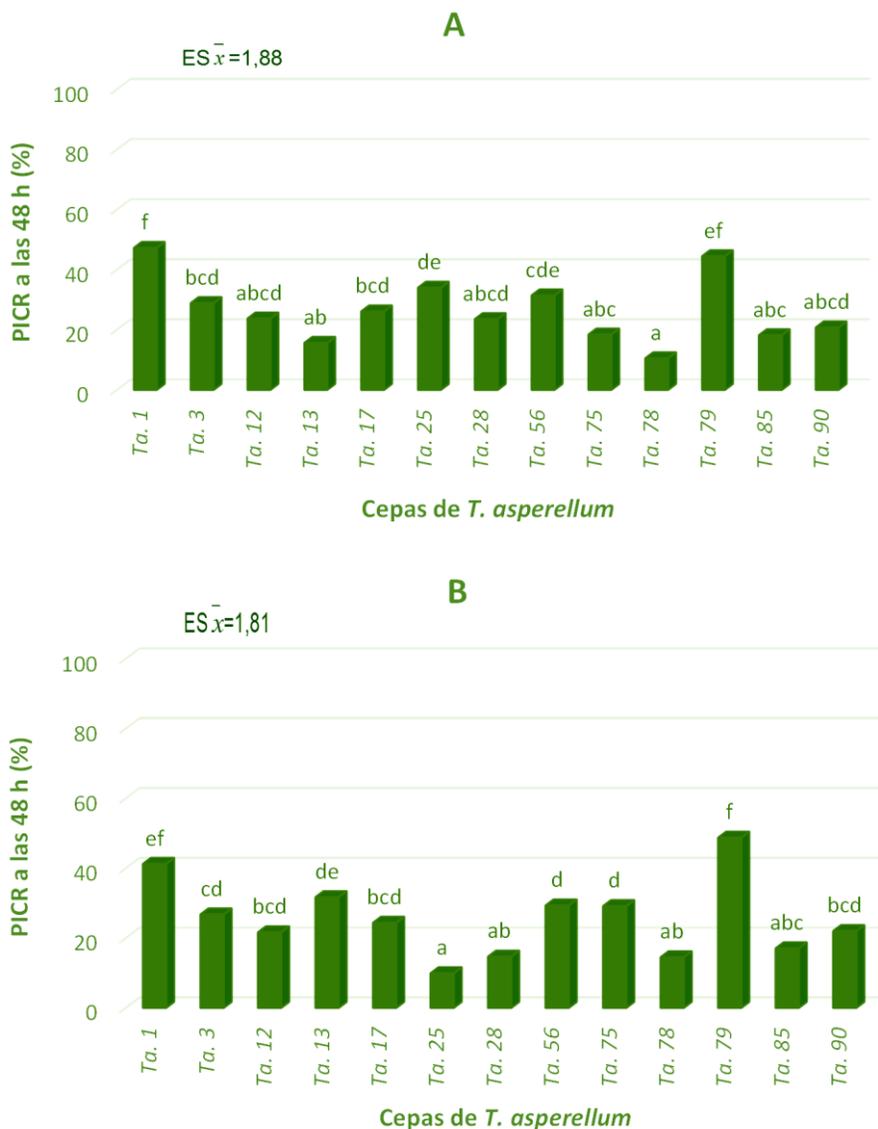
FIGURA 3. Competencia por espacio de *T. asperellum* y *Fusarium* spp. Inicio del crecimiento de *T. asperellum* sobre la colonia de *Fusarium* spp. desde las 96 h a 120 h, A_ *Ta. 79* vs *F. dlaminii*; B_ *Ta. 79* vs *F. solani*; C_ *Ta. 1* vs *F. dlaminii*; D_ *Ta. 1* vs *F. solani*. / *Competition for space of T. asperellum* and *Fusarium* spp. Beginning of *T. asperellum* growth on the colony of *Fusarium* spp. from 96 h to 120 h, A_ *Ta. 79* vs *F. dlaminii*; B_ *Ta. 79* vs *F. solani*; C_ *Ta. 1* vs *F. dlaminii*; D_ *Ta. 1* vs *F. solani*.

Trichoderma koningiopsis Samuels, frente a dos aislados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (Hanzawa) W.C. Snyder y H.N. Hansen.

Las cepas *Ta.* 79 y *Ta.* 1 produjeron los mayores PICR con valores máximos de 44- 47 % y 41- 48,72 % para *F. dlamini* y *F. solani*, respectivamente, con diferencias significativas respecto a las demás, con excepción de *Ta.* 56

y *Ta.* 25, que no tienen diferencias con *Ta.* 79 (*F. dlamini*), y la cepa *Ta.* 13 que no tiene diferencia con *Ta.* 1 (*F. solani*) (Fig. 4).

Los resultados coinciden con los informados por Fernández y Suárez (19), y Naglot *et al.* (20), quienes notificaron porcentajes de inhibición del crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* Schlechtendahl emend. Snyder



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

FIGURA 4. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de aislamientos de *F. dlamini* (A) y *F. solani* (B) frente a cepas de *T. asperellum*, a las 48 h. / Percentage of inhibition of radial growth (PICR) of isolates of *F. dlamini* and *F. solani* by strains of *T. asperellum*, at 48 h.

& Hansen y *F. solani* con valores entre 42-76 % en enfrentamientos con cepas de *T. harzianum* y *Trichoderma* sp., respectivamente.

El crecimiento de los aislamientos de *Fusarium* spp. no solo se limitó durante las primeras 72 h, sino que, en la mayoría de los tratamientos, a las 120 h las cepas de *T. asperellum* continuaron creciendo hasta cubrir completamente la colonia del hongo patógeno y esporularon sobre este.

La colonización de los sustratos y su rápido crecimiento constituyen características significativas de *Trichoderma* spp., las que hacen que sea un buen competidor por espacio, fundamentalmente en condiciones *in vitro* (21).

Este estudio indicó que las dos mejores cepas de *T. asperellum* con mayores porcentajes de inhibición del crecimiento de los patógenos probados fueron *Ta.* 1 y *Ta.* 79.

Se demostró que todas las cepas de *T. asperellum* evaluadas presentaron dos o más tipos de interacciones hifales, con predominio de la vacuolización y granulación del contenido

citoplasmático en el micelio de los patógenos (Tabla 1).

Las cepas *Ta.* 1 y *Ta.* 79 presentaron la mayor cantidad de tipos de interacciones hifales frente a los aislamientos de *F. dlamini* y *F. solani*, respectivamente.

En la mayoría de los tratamientos se encontraron conidios de *Fusarium* truncados (sin contenido citoplasmático), ruptura de septos y la presencia de granulaciones y vacuolas. Esto reafirmó la elevada capacidad micoparasítica de las cepas de *Trichoderma* frente a los patógenos (Fig. 5).

Los resultados corroboraron lo notificado por González *et al.* (22) y Hyder *et al.* (23), sobre la degradación enzimática de la pared celular de los hongos fitopatogénicos durante la acción micoparasítica, que causa lisis y con ello la desorganización del contenido citoplasmático que, según estos autores, está relacionada con la acción de las enzimas quitinasas, β -1,3-glucanasas, β -1,6-glucanasas, α -1,3-glucanasas y proteasas excretadas por *Trichoderma* spp.

TABLA 1. Tipos de interacciones hifales entre cepas de *T. asperellum* y los aislados de *Fusarium* spp. procedentes de frijol. / *Types of hyphal interaction between strains of T. asperellum and Fusarium isolates from common bean.*

Cepas de <i>T. asperellum</i>	Aislamientos de <i>Fusarium</i>	
	<i>F. dlamini</i>	<i>F. solani</i>
<i>Ta.</i> 1	G - V - P - L	G - V
<i>Ta.</i> 3	G - V - L	G - V
<i>Ta.</i> 12	G - V - P	G - V
<i>Ta.</i> 13	G - V - P	G - V
<i>Ta.</i> 17	G - V	G - V
<i>Ta.</i> 25	G - V	G - V
<i>Ta.</i> 28	G - V	G - V
<i>Ta.</i> 56	G - V	G - V
<i>Ta.</i> 75	G - V	G - V
<i>Ta.</i> 78	G - V	G - V
<i>Ta.</i> 79	G - V - L	G - V - P
<i>Ta.</i> 85	G - V - L	G - V
<i>Ta.</i> 90	G - V - P	G - V

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

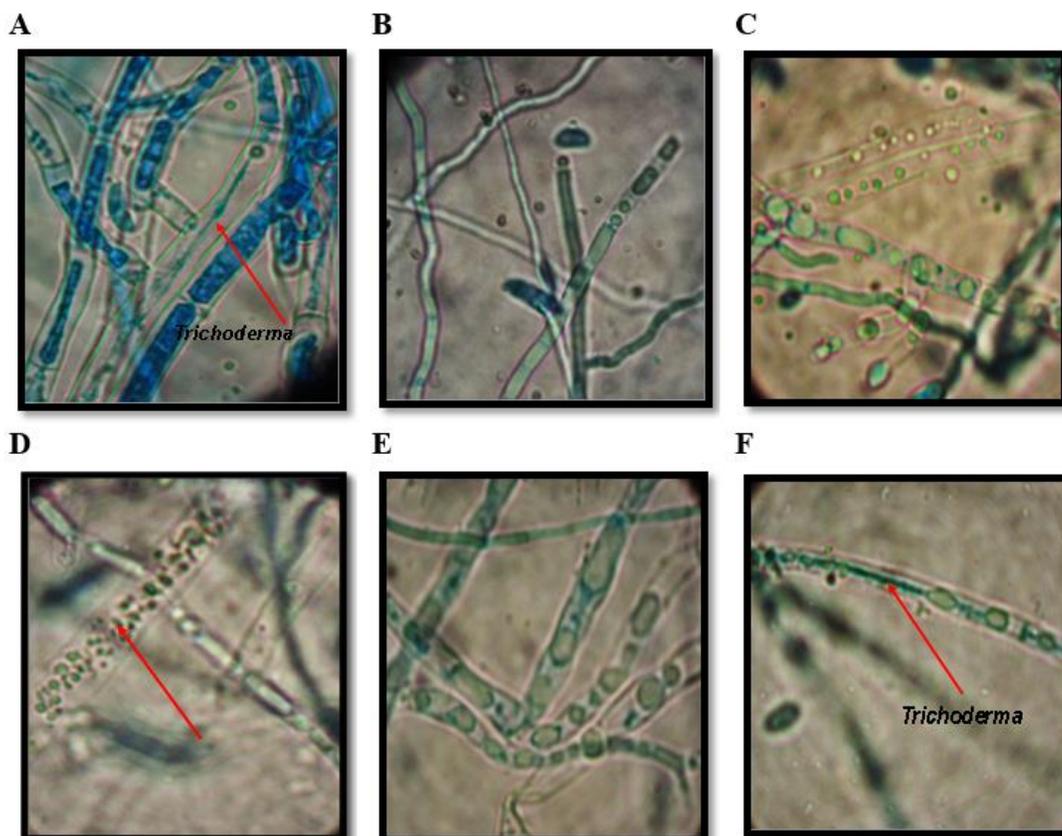


FIGURA 5. Micoparasitismo de las cepas *Ta. 1* y *Ta. 79* sobre aislamientos de *F. dlamini* y *F. solani*. A_ *Ta. 1* vs *F. dlamini* (penetración de la hifa de *Trichoderma*); B_ *Ta. 1* vs *F. dlamini* (lisis); C_ *Ta. 79* vs *F. dlamini* (granulación y vacuolización); D_ *Ta. 1* vs *F. solani* (granulación); E_ *Ta. 1* vs *F. solani* (vacuolización); F_ *Ta. 79* vs *F. solani* (penetración de la hifa de *Trichoderma*). / *Micoparasitism of strains Ta. 1 and Ta. 79 on isolates of F. dlamini and F. solani*. A_ *Ta. 1* vs *F. dlamini* (penetration of the *Trichoderma* hypha); B_ *Ta. 1* vs *F. dlamini* (lysis); C_ *Ta. 79* vs *F. dlamini* (granulation and vacuolization); D_ *Ta. 1* vs *F. solani* (granulation); E_ *Ta. 1* vs *F. solani* (vacuolization); F_ *Ta. 79* vs *F. solani* (penetration of the *Trichoderma* hypha).

León *et al.* (24) observaron presencia de estrangulamiento y lisis de las paredes de las hifas, seguidas de una desintegración y degradación de las paredes celulares de *Fusarium* sp. al enfrentarse a las cepas *Tb111* y *Tc241* de *Trichoderma* spp.

Las interacciones hifales que intervienen en el parasitismo son mediadas por la actividad enzimática del antagonista, que permite la penetración, deformación, desintegración y muerte de las hifas del patógeno (25), por lo que aquellas cepas que exhiben un alto potencial enzimático tienden a poseer un mayor efecto micoparasítico (22); de ahí la importancia de la

selección de cepas con varios tipos de interacciones hifales.

La integración de los resultados de la presente investigación permitió seleccionar las cepas *Ta. 1* y *Ta. 79* como promisorias para continuar los estudios en condiciones en campo.

REFERENCIAS

1. Vázquez Y, Batista EL. Evaluación morfológica de 8 variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.), en condiciones del municipio Río Cauto. Revista Granma Ciencia. 2016; 20(1): 8p.

2. Panorama Alimentario. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. Frijol. 2016. [Consultado: 11 de mayo de 2017]. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200638/Panorama_Agroalimentario_Frijol_2016.pdf
3. Oficina Nacional de Estadística e Información (ONEI). Agricultura, ganadería, servicultura y pesca. 2015. [Consultado: 20 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://www.onei.cu/aec2014/09%20Agricultura%20Ganaderia.pdf>
4. Martínez de la Parte E, Cantillo Pérez T, García D. Hongos asociados a semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivadas en Cuba. Biotecnología Vegetal. 2014; 14(2): 99-105.
5. González RM, Castellanos GL, Ramos FM, Pérez G. Efectividad de *Trichoderma* spp. para el control de hongos patógenos de la semilla. Fitosanidad. 2005; 9(1): 37-41.
6. Rodríguez O, Chaveco O, Ortiz R, Ponce M, Ríos H, Miranda S, et al. Evaluación del comportamiento de líneas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) resistentes a la sequía, en condiciones de riego y sin riego, e incidencia de enfermedades. Temas de Ciencia y Tecnología. 2009; 13(39):19-30.
7. Avendaño C, Arbeláez G, Rondón G. Control biológico del marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* en fríjol *Phaseolus vulgaris* L., mediante la acción combinada de *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma* sp. y *Pseudomonas fluorescens*. Agronomía Colombiana. 2006; 24(1):62-67.
8. 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.
9. Infante D, Martínez B, Peteira B, Reyes Y, Herrera A. Identificación molecular y evaluación patogénica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *Rhizoctonia solani* Kühn. Biotecnol Apl. 2013; 30 (1):17-22.
10. Cruz A, Rivero D, Echevarría A, Infante D, Martínez B. *Trichoderma asperellum* en el manejo de hongos fitopatógenos en los cultivos de arroz (*Oryza sativa* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y soya (*Glycine max* L.). Rev. Protección Veg. 2015; 30(suppl.1):87p.
11. Martínez B, Solano T. Antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria solani* (Ellis y Martin) Jones y Grout. Rev. Protección Veg. 1995; 10(3):221-225.
12. Bell DK, Wells HD, Markam CR. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against six fungal plant pathogens. Phytopathology. 1982; 72(4): 379-382.
13. Samaniego G, Ulloa S, Herrera S. Hongos del suelo antagonistas de *Phymatotrichum omnivorum*. Rev. Mex. Fitopatología. 1989; 8:86-95.
14. Chet I, Harman G, Baker R. *Trichoderma hamatum*: its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. Microbiol Ecol. 1981; 7(1):29-38.
15. Infante D, Martínez B, González N, Reyes Y. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Rev. Protección Veg. 2009; 24(1):14-21.
16. Reina JC, Torres-García LE, Grizalez-Méndez MA. Mechanism of action of *Trichoderma harzianum* as controlling agent of *Fusarium subglutinans*. Momentos de Ciencias. 2013; 10(1):54-58.
17. Echevarría A. Identificación y alternativa biológica para el control de la Marchitez en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). [Tesis en Opción al Título Académico de Máster en Sanidad Vegetal. Mención: Fitopatología]. La Habana, Cuba. 2015.
18. Sánchez AD, Barrera V, Reybet GE, Sosa MC. 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. 2015; 114 (1): 61-70.

19. Fernández RJ y 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.
20. Naglot A, Goswami S, Rahman I, Shrimali DD, Yadav KK, Gupta VK, Rabha AJ, Gogoi HK, Veer V. Antagonistic potential of native *Trichoderma viride* strain against potent tea fungal pathogens in North East India. Plant Pathol. J. 2015; 31(3):278-289.
21. Reyes Y, Martínez B, Infante D. Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. Rev. Protección Veg. 2008; 23(2):112-117.
22. González I, Infante D, Martínez B, Arias Y, González N, Miranda I, Peteira B. Induction of chitinases and glucanases in *Trichoderma* spp. strains intended for biological control. Biotechnol Apl. 2012; 29(1): 12-16. ISSN: 1027-2852.
23. Hyder S, Inam-ul-Haq M, Bibi S, Humayun A, Ghuffar S, Iqbal S. Novel potential of *Trichoderma* spp. as biocontrol agent. Journal of Entomology and Zoology Studies. 2017; 5(4):214-222.
24. León RA, Pino SC, Martínez B, Liriano R, 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.
25. Harman GE. Myths and dogmas of biocontrol – changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Dis. 2000; 84(4):377–393.