

Vol. 10 N° 1 • enero - junio 2020



EVALUACIÓN *IN VITRO* DE *Trichoderma* sp. COMO BIOCONTROLADOR DE HONGOS AISLADOS DE LA RIZOSFERA DE *Passiflora edulis*

Katuska Acosta-Marcano¹, Lucia González¹, Iris Jiménez², Geomar Molina²,

Juan Escaleras³, Katheryn Atencio⁴

¹Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. Laboratorio de Microbiología Agrícola. Apto. Postal. 401. ²Grupo BIEMARC. Universidad de la Guajira-Colombia. ³Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Técnica de Machala.

⁴Facultad de Ingeniería. Universidad Rafael Bellos Chacín.

Kacosta@fa.luz.edu.ve, katyacostamarcano@gmail.com, ggglucielvalle@gmail.com

RESUMEN

Lo sistemas agrícolas actuales propone biotecnología alternativas para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos del suelo, siendo el uso del antagonista *Trichoderma* una de las herramientas más prometedoras y viable por la versatilidad y adaptabilidad a diferentes zonas agroecológicas. Con la finalidad de evaluar el efecto biocontrolador *in vitro* de *Trichoderma* nativos y comercial sobre hongos fitopatógenos de suelo de plantaciones del cultivo de parchita (*Passiflora flavicarpa*) del municipio Sucre, estado Zulia. Se estableció un ensayo en el Laboratorio de Microbiología Agrícola de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia. Se aislaron los hongos fitopatógenos y cepas de *Trichoderma* nativas presentes en muestras de suelo a través de la técnica de dilución en placa y cultivo trampa en granos de arroz. La actividad antagónica fue evaluada por la técnica del disco, determinándose crecimiento el crecimiento libre y dual de los antagonistas, grado de antagonismo y el porcentaje de inhibición del crecimiento radial del hongo patógeno (PICR). El hongo *Trichoderma* aislado ejerció un biocontrol efectivo sobre los hongos fitopatógenos aislados de la rizosfera del cultivo parchita mostrando una actividad antagónica con grado de inhibición de 1-3 y valores de PIRC de 51-78% en comparación con la cepa comercial cuyo valores PICR oscilaron entre 30-50,8%. La utilización de cepas nativas de *Trichoderma* se vislumbra con un alto potencial biocontrolador en el cultivo de la parchita en condiciones *in vitro*, sin embargo, es necesario su correcta incorporación en condiciones de campo en sistemas de producción y condiciones agroecológicas.

Palabras clave: Antagonismo, *Trichoderma*, parchita, *Passiflora flavicarpa*.

Recibido: 15-03-2020. Aceptado: 08-04-2020.

ABSTRACT

Modern agriculture proposes alternative biotechnology for the control of plant diseases produced by soil fungi, the use of the *Trichoderma* antagonist being one of the most promising and viable tools due to the versatility and adaptability to different agro-ecological zones. In order to evaluate the *in vitro* biocontrol effect of native and commercial *Trichoderma* on phytopathogenic fungi of soil of plantations of the parchita (*Passiflora flavicarpa*) plantation of Sucre municipality, Zulia State. An essay was established in the Laboratory of Agricultural Microbiology of the Faculty of Agronomy of the University of Zulia. The phytopathogenic fungi and native *Trichoderma* strains present in soil samples were isolated through the technique of plate dilution and trap culture in rice grains. The antagonistic activity was evaluated by the disc technique, determining the growth of the free and dual growth of the antagonists, the degree of antagonism and the percentage of inhibition of the radial growth of the pathogenic fungus (PICR). The isolated *Trichoderma* fungus exerted an effective biocontrol on the phytopathogenic fungi isolated from the rhizosphere of the parchita culture showing an antagonistic activity with degree of inhibition of 1-3 and PIRC values of 51-78% in comparison with the commercial strain whose PICR values oscillated between 30-50.8%. The use of native strains of *Trichoderma* is seen with a high potential biocontrolador in the cultivation of the parchita in conditions *in vitro*, nevertheless it is necessary its correct in-

corporation in field conditions in production systems and agro-ecological conditions.

Keywords: Anatoxism, *Trichoderma*, parchita, *Passiflora flavicarpa*.

INTRODUCCIÓN

La importancia de las enfermedades en planta producidas por microorganismos, radica en que constituyen la mayor causa de pérdida en la producción agrícola, tanto en cosecha como en post cosecha. Dentro de este grupo de fitopatógenos, los hongos constituyen uno de los principales grupos tanto por la diversidad de especies existentes como por las pérdidas que originan. Sin embargo la utilización cotidiana y extensiva de compuestos químicos para el control de enfermedades contribuye a la crisis de la agricultura, incidiendo en la emergencia de patógenos resistentes a fungicidas (Christopher y col., 2010), dificulta la preservación de los ecosistemas, los recursos naturales, y afecta la salud de las comunidades rurales y de los consumidores urbanos.

En efecto la utilización de algunos de estos plaguicidas ha sido identificada como un peligro a largo plazo para el ambiente y están rigurosamente restringidos o prohibidos por convenios internacionales, como el Convenio de Estocolmo sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP). Las clasificaciones incluidas en ese documento tienen una utilidad para ayudar a las autoridades de los países en desarrollo a adoptar decisiones prácticas destinadas a mitigar el riesgo de los plaguicidas (Del Puerto y col., 2014), por lo que dicha situación ha promovido la búsqueda de alternativas viables que garanticen una mayor sostenibilidad en la producción agrícola, minimizando el impacto sobre el ambiente y disminuyan los costos de producción.

Evidentemente las opciones de manejo de las enfermedades de las plantas, diferentes al control químico, son múltiples, variadas y factibles de utilizarse desde el punto de vista práctico.Cuál o cuáles combinaciones de ellas deberán adoptarse, dependerá de la redituabilidad del cultivo, enfermedades a controlar, disponibilidad de recursos económicos, grado de tecnificación y condiciones ambientales (Mehta. y col., 2014).

Así frente a esta situación la biotecnológica agrícola propone alternativas viables con el empleo de microorganismos antagónicos, dentro de estos, la utilización de *Trichoderma* como agente biocontrolador de patógenos de las plantas. Cabe

destacar que se ha señalado a *Trichoderma* como un iniciador del sinérgimo beneficioso compitiendo por el espacio y los nutrientes, e inhibiendo y / o parasitando a los patógenos liberando antibióticos fungitóxicos, en combinación con la degradación de la pared celular por la secreción de extracelulares (Qualhato y col., 2013), inducción de mecanismos de resistencia de las plantas (Shoreh y col., 2010) y actividad biostimulante, el desarrollo de raíces y el crecimiento de las plantas (Lorito., 2010). Aunado a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, crecimiento rápido en un gran número de sustratos (Amira y col., 2017), es por ello, que proponemos el uso de *Trichoderma* sp. como alternativa en el control biológico de enfermedades producidas por hongos fitopatógenos en los cultivos de parchita (*Passiflora Flavicarpa*) en la región sucrense del Estado Zulia. En atención a lo antes expuesto se pretende evaluar la capacidad *in vitro* de *Trichoderma* sp. como biocontrolador de hongos fitopatógenos de la rizosfera del cultivo de la parchita (*Passiflora Flavicarpa*)

MARCO METODOLÓGICO

Descripción de la zona de Muestreo

Se recolectaron muestras de la rizosfera del cultivo de parchita (*Passiflora Flavicarpa*) en las granjas ubicadas en el sector La Rosario de la Parroquia Gibraltar del Municipio Sucre del Estado Zulia.

Aislamiento de hongos del suelo

Se colectó 1kg de muestras de suelo de la rizosfera de plantaciones de parchita, partiendo de un muestreo completamente aleatorizado en diferentes granjas donde se cultivan la misma variedad y donde el manejo agronómico es relativamente parecido, aproximadamente a unos 10-20 cm de profundidad, las cuales fueron trasladadas al laboratorio de Microbiología Agrícola de la Unidad Técnica Fitosanitaria de la Facultad de Agronomía de la universidad del Zulia donde se unificaron las muestras y se tomó un Kg como muestra representativa de la zona para la realización de los bioensayos. Por medio de las técnicas de platos de suelo y de dilución se analizó la microbiota presente a las 60 horas de incubación en agar papa dextrosa (PDA). A partir de 10 gramos de suelo en 95 ml de agua destilada esterilizada se prepararon las diluciones respectivas, donde el número de diluciones dependió del grado de aparición de los hongos, transfi-

riendo un ml de cada dilución a placas de Petri con agar papa dextrosa (PDA), añadiendo tres gotas de ácido láctico al 25% al momento en el que se aplica el medio de cultivo (PDA), para la inoculación de los hongos se tomó una alícuota de 0.5 mL dispersando uniformemente el inóculo sobre la superficie de una caja Petri con su respectivo medio de cultivo (PDA). Posteriormente se procedió a la purificación de los hongos desarrollados diferenciándolo con base a sus características macroscópicas, microscópicas, estructuras somáticas, estructuras de reproducción y de resistencia realizándose la identificación a nivel de género a través de uso de claves para hongos imperfectos.

Aislamiento de cepas nativas de *Trichoderma* spp.

El aislamiento de *Trichoderma* se realizó a través del método de dilución en placa, pesando 10 g del suelo colectado y colocándolo en un Erlenmeyer con 95 mL de agua destilada esterilizada, agitando manualmente durante 10 s, luego se tomó una alícuota de 10 ml y se depositó en otro Erlenmeyer con 90 ml de agua destilada esterilizada repitiendo el procedimiento; de una segunda dilución, se tomó una alícuota de 0.5 ml dispersando uniformemente el inóculo sobre la superficie del agar en una placa de Petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA). (El número de diluciones dependió del grado de aparición del hongo) adicionado con 500 mg L-1 de cloranfenicol. Las placas de Petri se incubaron a 28°C 2°C durante 5-7 días. Para la inoculación del hongo se tomó una alícuota de 0.5 mL dispersando uniformemente el inóculo sobre el medio de cultivo (PDA) de una caja Petri.

Las colonias de *Trichoderma* spp. se identificaron por la forma de crecimiento característico de colonias de color verdoso, siguiendo las claves de Barnett y Hunter (1972), citado por Casimiro y col., (2009); posteriormente se purificaron y observo al microscopio compuesto las características del género, como es el desarrollo de un conidióforo hialino, muy ramificado, no verticilado, con fiálides individuales o en grupos, fialeconidios hialinos unicelulares, ovoides formados en pequeños racimos terminales, y las cepas axénicas se mantendrán a temperatura ambiente en tubos inclinados con PDA y se etiquetaron para su conservación, hasta su posterior uso (Guigón y col., 2010). De igual manera se evaluó un inóculo comercial en la presentación de *Trichoderma* spp como polvo mojable en bolsa metalizada de 150 gr marca TRICODERMUS de 95% de pureza.

Evaluación de la capacidad In vitro de *Trichoderma* spp a través del Método del papel celofán (Dennis y Webster, 1971)

Se procedió a cortar el papel en círculos de 9,0 cm de diámetro, los cuales fueron esterilizado previamente y se colocaron cada uno bajo condiciones asépticas dentro de la placa de Petri sobre el medio de cultivo PDA; luego se inocularon cada placa de agar, depositando en la parte central del papel un fragmento micelial de 5 mm de diámetro, de cada uno de los diferentes inóculos de *Trichoderma* de cultivos de 8 días de crecimiento, incubándose durante 2 días a 28°C 2°C. Posteriormente se procedió a retirar el papel transfiriéndolo cuidadosamente para evitar que alguna espora del hongo se disemine en el medio de cultivo, para luego inocular en el centro de esa misma placa de Petri, un disco de 5 mm de diámetro de las especies de los hongos fitopatógenos a evaluar. Se tomaron mediciones del diámetro del crecimiento micelial del hongo aproximadamente por un periodo de 10 a 12 días (Reyes y col., 2008).

Para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento radial del hongo fitopatógeno (PCRI) (Worasatit y col., 1994), se calculó con base a la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de inhibición} = [(D_1 - D_2) / D_1 \times 100]$$

Dónde:

- D₁** Diámetro de la colonia del Hongo fitopatógenos creciendo en placas con PDA libre de inhibidores
- D₂** Diámetro de la colonia del Hongo fitopatógenos creciendo en placas con PDA, donde anteriormente creció *Trichoderma* spp.

Actividad antagónica de *Trichoderma* spp. sobre los hongos fitopatógenos

Se colocaron en un extremo de cajas Petri con PDA un disco de 5 mm de diámetro con micelio activo de colonias fungosas de 8 días de edad de se dejaran desarrollar durante 3 días para su crecimiento y posteriormente, en el otro extremo de la caja se depositaran discos de 5 mm de *Trichoderma* spp. Incubándose a 25°C con un fotoperiodo de 12 h y 40% de humedad relativa. Se realizaron lecturas cada 24 h para determinar el número de días al primer contacto entre las hifas de los dos hongos, la zona de intersección, y a los 15 días después de la siembra de *Trichoderma* se clasifico el tipo de antagonismo según la siguiente escala de valores.

Cuadro 1. Escala de medición de la actividad antagonista de *Trichoderma* spp. (Michel-Aceves y col., 2009)

Grado	Descripción
1	<i>Trichoderma</i> sobrecrece completamente al patógeno y cubre totalmente la superficie del medio
2	<i>Trichoderma</i> sobrecrece las dos terceras partes de la superficie del medio
3	<i>Trichoderma</i> y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie y ningún organismo parece dominar al otro
4	El patógeno coloniza las dos terceras partes de la superficie del medio y parece resistir a la invasión por <i>Trichoderma</i>
5	El patógeno sobrecrece completamente a <i>Trichoderma</i> y ocupa la superficie total del medio.

Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020)

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó bajo un diseño experimental completamente aleatorizado conformado por tres tratamientos, con 10 repeticiones y la unidad experimental estuvo repre-

sentada por una cápsula de Petri con el respectivo inóculo. Los análisis de varianza, se realizaron utilizando el procedimiento GLM del programa estadístico SAS® (Statistical Analysis System), versión 9.1.3 (SAS, 2014) y Microsoft Office Excel año 2010.

Cuadro 2. Definición y descripción de los tratamientos

Tratamiento	Descripción
T1	<i>Trichoderma</i> comercial x hongo fitopatógeno
T2	<i>Trichoderma</i> nativos x hongo fitopatógeno
T3	Testigo hongo fitopatógeno
T4	<i>Trichoderma</i> comercial
T5	<i>Trichoderma</i> nativos

Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la microbiota presente en la rizosfera del cultivo de la parchita (*Passiflora flavicarpa*).

Una vez realizado los aislamientos de la microbiota presente en las unidades de producción del cultivo del cultivo *Passiflora flavicarpa* del sector La Rosario de la parroquia Gibraltar del municipio Sucre, los grupos funcionales de hongos aislados e identificados a nivel de géneros según las observaciones realizadas de las características culturales macroscópicas y estudio de las estructuras morfológicas microscópicas según lo reportado en claves de Barnett y Barry., 1998, Castañeda., 2004. De acuerdo con las características descritas por las claves especializadas, se identificaron 7 géneros correspondientes las clases Deuteromycotina, Zy-

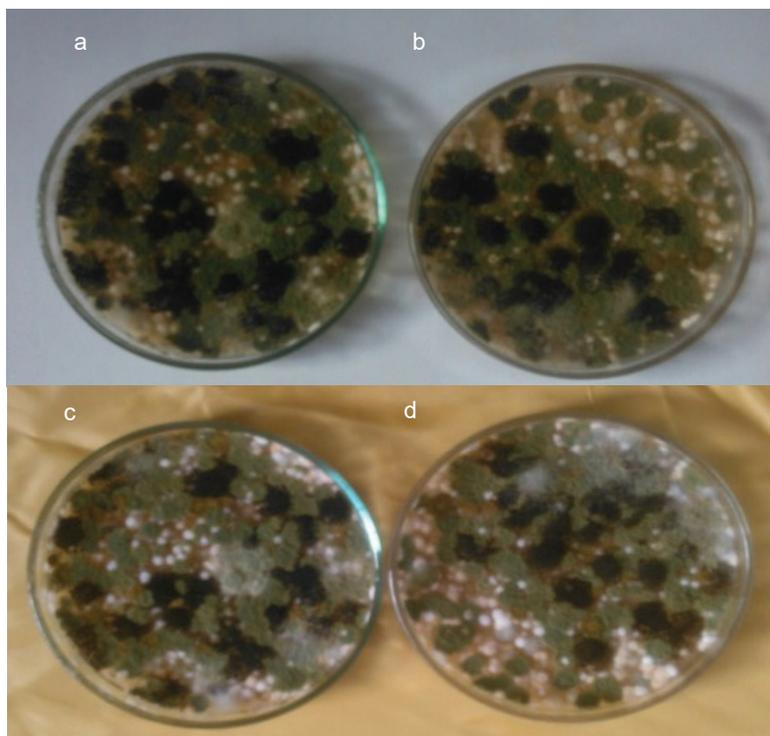
gomycetes, Ascomycota y los órdenes Molinales, Mucorales y Eurotiomycetes representados por los géneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Heterocephalum* y *Paecilomices*.

Se observó predominancia de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* en las muestras analizadas, los cuales son considerados por muchos investigadores como hongos muy cosmopolitas y altamente esporulantes en ambientes edáficos, saprofitos facultativos lo que le brinda una rápida capacidad de dispersión y ubicuidad, relacionándose con beneficios en la solubilización de fosfatos presentes en el suelo (Pérez y col., 2012), sin embargo estos no son considerados patógenos en el cultivo de la parchita, sino que están relacionados especialmente con daños postcosecha en frutas (Martínez, 2001). Estos resultados coinciden con investigaciones de la diversidad de microbiota presente en suelos culti-

vados con parchita en los Valle de Cauca Colombia donde se señalaron la presencia de especies como *A. nidulans*, *A. niger*, *Penicillium citrinum*, *Verticillium*, *Cladoporium*, *Rhizopus oryzae*, *Mortierella*

sp., *Fusarium*, *Cephalosporium*, *Curvularia sp* y *Curvularia lunatus* (Granobles y Torres., 2013). (Figura 1-2)

Figura 1. Aislamiento de micobiota presente en la rizodfera del cultivo parchita (*Pasiflora flavicarpa*) mediante la técnica dilución seriada. Crecimiento macroscópico de las diferentes colonias fúngicas de: a: *Aspergillus*, b: *Penicillium*, c: *Verticillium*, d: *Rhizopus*

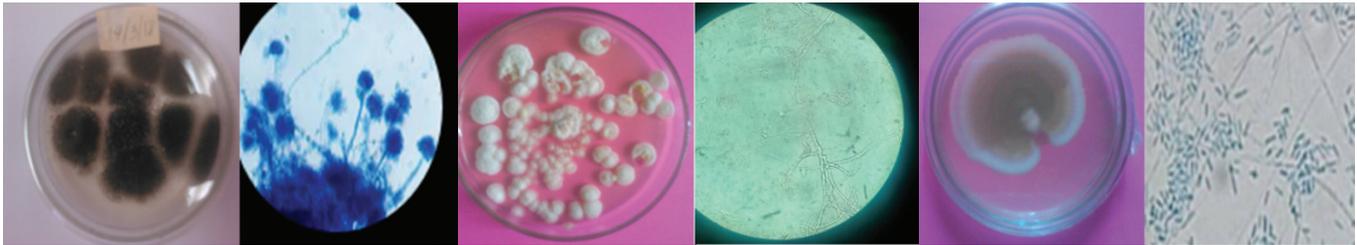


Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020)

Es importante resaltar la presencia del género *Fusarium* el cual ha sido señalado como en el cultivo de parchita como incidente frecuente, reportándose a especies *F. solani* (telemorfo *Nectria haematococca*) y *F. oxysporum* causantes de marchitamiento y pudriciones del cuello y raíces (Junqueira y col., 2012). En relación a este género es necesario señalar que los aislamientos de suelos no resultaron efectivos, para la obtención del mismo, a pesar de indicarse por los productores de la zona presencia de sintomatología en el cultivo asociado a marchitez por *Fusarium*. Por lo que fue necesario seleccionar muestras a nivel del rizoplasma, facilitando la obtención de colonias a través de cámaras húmeda. Igualmente, se señala la interacción con *Phytophthora* y *Rhizoctonia* asociado a la enfermedad, siendo este último, el segundo género de hongo fitopatógeno aislado en las muestras de suelo analizadas.

De igual forma otro grupo de hongo que resalta su presencia en estos suelos fueron *Heterocephalum* y *Paecilomyces*, los cuales no han sido reportados como micobiota característica de la rizosfera de *Pasiflora*. Hallazgo interesante ya que *Paelomyces* ha sido señalado como un solubilizador de fosfato y agente biocontrolador de nematodos en suelo (nematofagos) (Pérez Bocourt y col., 2009; Vera y col., 2012) lo que pudiera ser considerada dentro de los programas de *manejo agroecológico del cultivo*. Así se ha señalado las especies *Paecilomyces lilacinus* como biocontrolador de insectos plagas de cultivos y de hongos fitopatógenos como *Macrophomina phaseoli*, *Sclerotium cepivorum* y de algunos nematodos como *Globodera pallida*, *Meloidogyne arenaria*, *M. javanica* y *M. incognit* y a *Paecilomyces variotii* Bainier como biocontrolador de *Diaphorina citri* y algunos hongos como *Pythium ultimum* Trow (Vázquez y col., 2006).

Figura 2. Colonias de los géneros de hongos aislados (*Aspergillus spp*, *Rhizopus spp*, *Verticillium*, *Rhizotocnia spp* y *Paecilomyces spp*) creciendo en agar papa dextrosa (PDA). 6-8 días de desarrollo. B. Microfotografía del genero *Aspergillus* 40X.



Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020)

Autores han señalado que la diversidad de especies fúngicas en el suelo está relacionada con los tipos de establecimiento del cultivo, prácticas de manejo agronómico, condiciones climatológicas, de tal manera que son de esperar cambios en la estructura de la microbiota en el suelo, desde su diversidad hasta la aparición de especies no típicas de suelos (Samaniego y Chew., 2007). Así Granobles y Torres (2013) han señalado variaciones en la dinámica poblacional de hongos patógenos asociados al cultivo de Maracuyá, debido al cambio de condiciones ambientales del suelo.

Aislamiento de *Trichoderma*

En los aislamientos realizados mediante la técnica de dilución seriada directamente del suelo, no pudimos apreciar el desarrollo de colonias típicas de *Trichoderma*, pudiendo ser enmascarado por los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* que se encon-

traban en mayor nivel poblacional que dificultó la obtención de este grupo de hongo. Sin embargo a través de la técnica de cultivo trampas con sustrato a base de arroz para muestrear el crecimiento macroscópico del *Trichoderma* (Smith y col., 2002), se pudo observar el desarrollo de *Trichoderma* aislado de la rizosfera, las cuales iniciaron el desarrollo a los 5 días de aislados. Apreciándose el crecimiento de colonias aterciopeladas de color blanco verdoso, característico de este género de hongo (figura 3).

Estos crecimientos posteriormente se tornaba verde oliva con el tiempo, característica macroscópica descrita por Arias y Piñeros en el 2008.

En este sentido se ha señalado que en las muestras de raíces, existe la mayor posibilidad de éxito de aislamiento del género *Trichoderma*, con diferencias de un en relación a los aislamientos realizados directamente de suelo (Moya y col., 2014)

Figura 3. Desarrollo de las colonias con evidencia de posible crecimiento de *Trichoderma* con estructura algodonosa y coloración verde oliva aisladas mediante la técnica del cultivo trampa en granos de arroz esterilizado en PDA y granos de arroz esterilizado e incubado en suelo. Desarrollo inicial en los gránulos de arroz de micelio blancuzco que posteriormente fue tornándose en una masa algodonosa de color verde oliva.

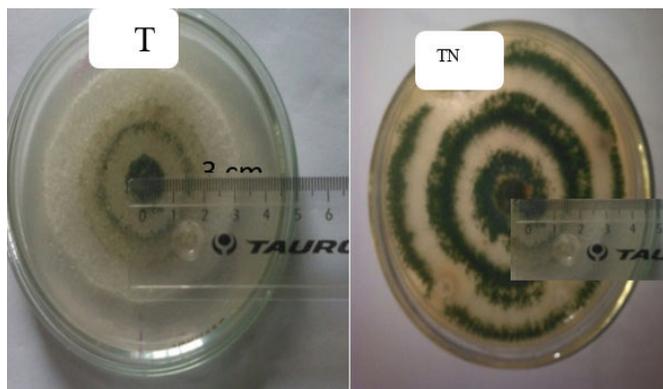


Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020)

Comparación de la tasa de crecimiento de los inóculos de *Trichoderma* comercial y nativo aislado de suelos cultivados con *Passiflora flavicarpa*.

Los análisis de varianza mostraron diferencias significativas en relación a la tasa de crecimiento in vitro de las cepas de *Trichoderma* evaluados. Se puede apreciar en la figura 4 que los mayores valores para la tasa de crecimiento correspondieron a la cepa de *Trichoderma* nativo. La cual se ubicó entre 4,1 a 4.5 cm, mostrando una diferencia de 60% al comprarse el comportamiento del crecimiento en PDA de la cepa del *Trichoderma* comercial cuyo diámetro de crecimiento oscilo entre 2 a 3 cm.

Figura 4. Comparación de la velocidad de crecimiento de inóculos comerciales de *Trichoderma* y cepas nativas aisladas de la rizosfera del cultivo Parchita. A: crecimiento radial de cepa de *Trichoderma* a los 7 días de incubación. A: *Trichoderma* comercial (3 cm). B: *Trichoderma* nativo (5,3 cm)



Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020)

Como se observa en la figura 4, la cepa de *Trichoderma* comercial mostro un crecimiento más lento y con desarrollo escaso de micelio aéreo, aunado a la pigmentación de mismo no era el verde típico característico de este género, apreciándose más tenue y de baja capacidad de esporulación. A diferencia de la cepa nativa que mostro un color verde intenso, tornándose con el tiempo algodonoso y se observa la esporulación en la zona periférica de la colonia en pústulas conidiógenas de color blanco, que luego se tornan verde grisáceo, característica similares a las señalada por Arena y col., 2009.

En relación a estos resultados se ha señalado que la cepa nativa TCN-014 tiene mayor efectividad que la cepa comercial TCC-005 de *Trichoderma*

harzianum, sobre la germinación y el crecimiento temprano del cultivo parchita (Hinojosa y col., 2009). De igual manera Meza y col., (2008), al comparar 3 cepas de *Trichoderma* comerciales (TCC-001, TCC-005, TCC-006) contra tres aislamientos nativos de *T. harzianum* (TCN-009, TCN-010, TCN-014) TCC-001 y TCN-014, reportan que los aislamientos nativos de suelos con establecimiento del cultivo parchita, resultaron ser más competentes por nutrientes y espacio, con el mayor radio de crecimiento de 7,50 y 7,32 cm durante 10 días de ensayo.

El empleo de microorganismos antagónicos competitivos para la protección de cultivos de patógenos fúngicos del suelo es una realidad; en particular, especies del género *Trichoderma* que han acaparado la atención como agentes de biocontrol. Sin embargo se ha venido observando que en ocasiones los propágulos de hongos en los suelos pueden estar en bajo número o éstos no ser eficientes para ejercer su función como agente biocontroladores de patógenos de las plantas (Stefanova, 2007).

Se ha señalado que, dentro de las estrategias de control, sería recurrir a la inoculación de cepas de *Trichoderma* que permitan garantizar la presencia de antagonistas naturales. Sin embargo, si la inoculación se realiza con cepas no nativos, debe considerarse que los suelos difieren en su receptividad a los microorganismos introducidos (Plenchette, 2000), al igual que muchos inoculantes pierden su viabilidad, estabilidad funcional y eficacia, considerándose como elementos cruciales que limita el uso de inoculantes microbianos en campo (Mena Eschevarría y col., 2015). Por lo que es más recomendable utilizar cepas nativas ya que el comportamiento de estas resultaría más eficientes y competitivas ya que estarían adaptadas a las condiciones edafoclimáticas de la zona donde están establecidos los cultivos podría ser una alternativa promisoría para disminuir el efecto dañino de los fitopatógenos disminuyendo el uso de agente químicos (Guigón y González., 2004; Insuasty y col., 2012).

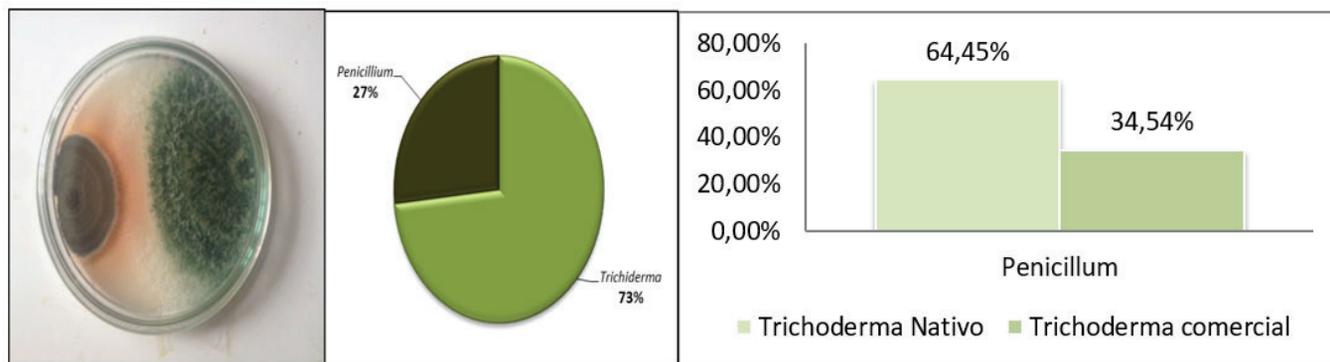
Los análisis de varianza realizados mostraron diferencias significativa para la variable velocidad de crecimiento y porcentaje de inhibición de crecimiento radial de los hongos aislados del suelo cultivado con el cultivo parchita *Passiflora flavicarpa* en relación al tipo de cepa de *Trichoderma*.

Trichoderma Vs *Penicillium*

En la figura 5 se puede observar diferencias entre los crecimientos duales con respecto a *Penicillium*. El cual mostro valores medio de velocidad de crecimiento de 1,9 cm al enfrentarse con la cepa de *Trichoderma* nativa, condición que se vio incrementada a crecer de manera dual con la cepa comercial, donde alcanzó valores de 2,24 cm,

significando una diferencia significativa de 55% en relación al crecimiento individual donde desarrollo valores medio de 5,5 cm. Se puede apreciar según la escala de medición de la actividad antagonica de *Trichoderma*, donde el hongo antagonista es capaz de colonizar la 2/3 parte de la superficie del área del medio en la placa de Petri con los enfrentamientos, permitiendo ubicar este biocontrol dentro del grado 2 (Figura 5).

Figura 5. Grado de actividad antagonica y porcentaje de inhibición del crecimiento radial in vitro de cepas de *Trichoderma* comercial y nativo contra *Penicillium* aislado de la rizosfera del cultivo de la parchita (*Passiflora Flavicarpa*).



Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020)

El análisis de varianza para la variable PICR para *Trichoderma* vs *Penicillium*, se apreció inhibición del crecimiento, donde los mayores valores fueron alcanzado por las cepas de *Trichoderma* nativa, las cuales en las pruebas de enfrentamientos lograron inhibir 65,45% PICR, mientras que la cepa de *Trichoderma* comercial mostro una inhibición del 34,54%.

El *penicillium* es un género fúngico está ampliamente presente en diversos sustratos, como el suelo y los alimentos, y en diversos procesos desde la patogenidad necrotrófica hasta el mutualismo endofítico. Aunado a su porcentaje de aparición significativo en las muestras de suelos analizadas, resalto la producción de metabolitos secundarios características de este género, señalándose los antibióticos, las equinocandinas antifúngicas y las estatinas dentro de estos. Los cuales se apreciaban con zonas de confortamiento con una pigmentación rojiza, que contrarrestaba el efecto antagonico de *Trichoderma* (figura 5).

Trichoderma Vs *Aspergillus*

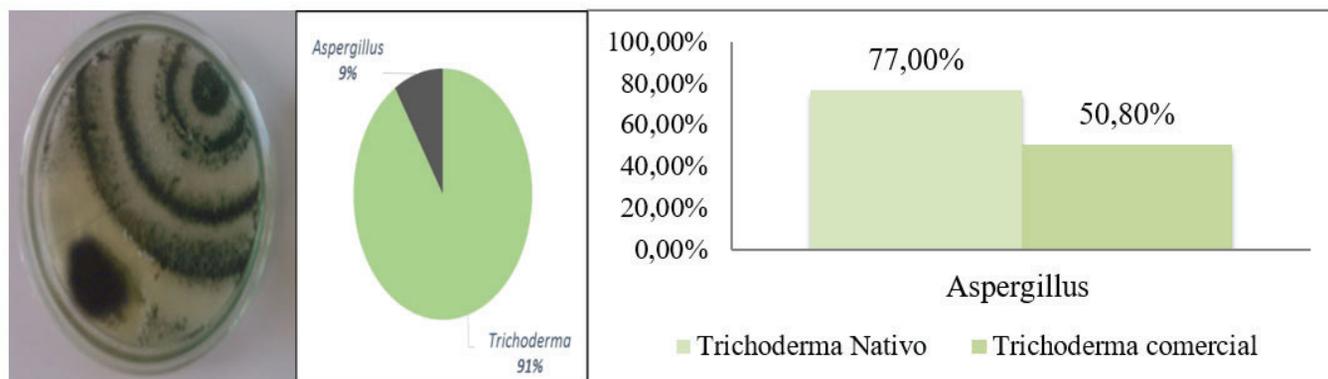
En la figura 6 se puede observar diferencias entre los crecimientos duales *Trichoderma* con res-

pecto a *Aspergillus*, en la misma se muestran los valores medio de velocidad de crecimiento de 1,4 cm al enfrentarse con la cepa de *Trichoderma* nativa, condición que se vio incrementada a crecer de manera dual con la cepa comercial, donde alcanzó valores de 3,0 cm, significando una diferencia significativa de 78% en relación al crecimiento individual de este género donde desarrollo valores medio de 6,1 cm.

Se puede apreciar el mismo comportamiento que *Penicillium*, según la escala de medición de la actividad antagonica de *Trichoderma*, donde el hongo antagonista es capaz de colonizar la 2/3 parte de la superficie del área del medio en la placa de Petri con los enfrentamientos, permitiendo ubicar este biocontrol dentro del grado 2.

El análisis de varianza para la variable PICR para *Aspergillus* vs *Trichoderma*, mostro diferencias, apreciándose inhibición del crecimiento, donde los mayores valores fueron alcanzado al enfrentarse con las cepas de *Trichoderma* nativa, las cuales valores de PICR de 77%, mientras que la cepa de *Trichoderma* comercial mostro una inhibición del 50,8% (figura 6).

Figura 6. Grado de actividad antagónica y porcentaje de inhibición del crecimiento radial in vitro de cepas de *Trichoderma* comercial y nativo contra *Aspergillus* aislado de la rizosfera del cultivo de la parchita (*Passiflora Flavicarpa*)



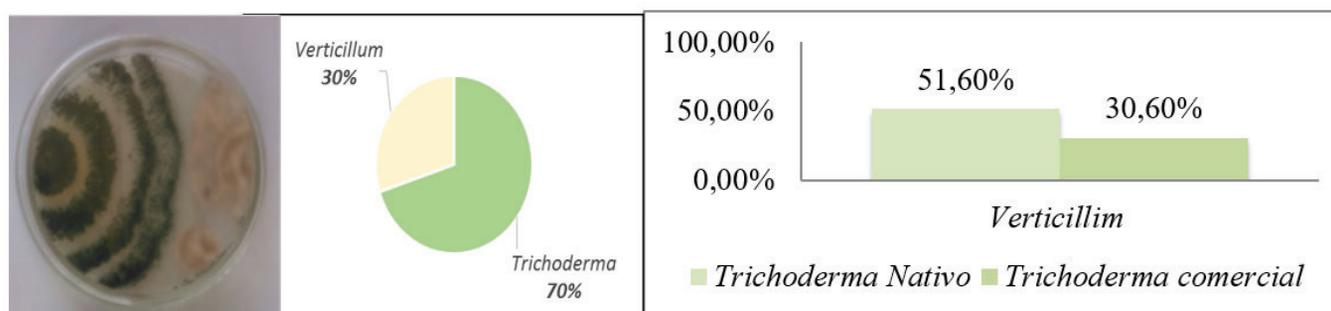
Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020)

En la figura 7 se puede observar diferencias entre los crecimientos duales con respecto a *Verticillium*. El cual mostro valores medio de velocidad de crecimiento de 3 cm al enfrentarse con la cepa de *Trichoderma* nativa, condición que se vio incrementada a crecer de manera dual con la cepa comercial, donde alcanzó valores de 4,3 cm, significando una diferencia significativa de 55% en relación al crecimiento individual donde desarrollo valores medio de 6,2 cm. Exhibiendo *Trichoderma* una capa-

cidad de abarcar una mayor superficie en el medio PDA, ubicándose en grado 2 de antagonismo.

El análisis de varianza para la variable PICR para *Verticillium* vs *Trichoderma*, se apreció inhibición del crecimiento, donde los mayores valores fueron alcanzado por las cepas de *Trichoderma* nativa, las cuales en las pruebas de enfrentamientos lograron inhibir 51.6 % PICR, mientras que la cepa de *Trichoderma* comercial mostro una inhibición del 30,6 % (Figura 9).

Figura 7. Grado de actividad antagónica y porcentaje de inhibición del crecimiento radial in vitro de cepas de *Trichoderma* comercial y nativo contra *Verticillium* aislado de la rizosfera del cultivo de la parchita (*Passiflora Flavicarpa*)



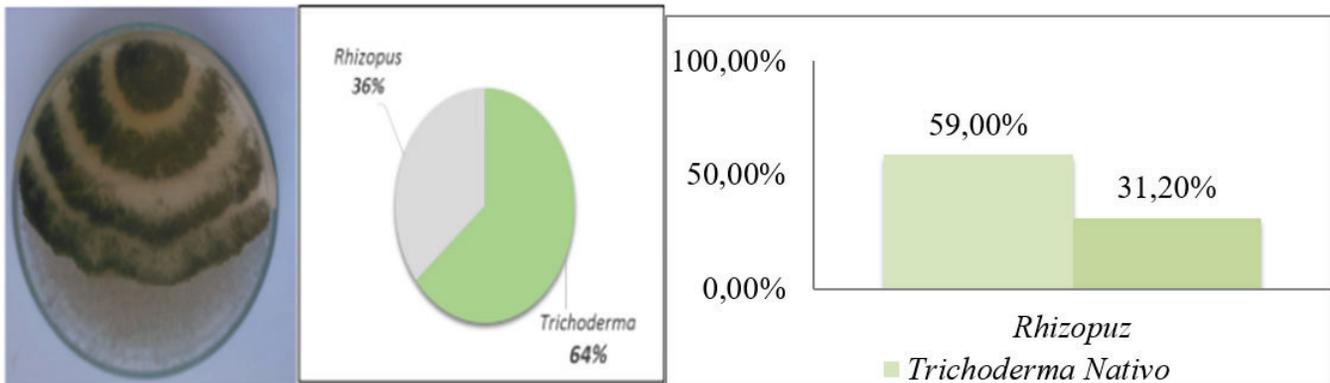
Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020)

Trichoderma Vs *Rhizopus*

En la figura 8, se observan diferencias entre los crecimientos duales *Trichoderma* con respecto a *Rhizopus*, en la misma se muestran los valores medio de velocidad de crecimiento de 2,4 cm al enfrentarse con la cepa de *Trichoderma* nativa, condi-

ción que se vio incrementada a crecer de manera dual con la cepa comercial, donde alcanzó valores de 4,5 cm, mientras que de forma individual mostro 4 veces mayor su crecimiento, con valores medio de 8 cm.

Figura 8. Grado de actividad antagonista y porcentaje de inhibición del crecimiento radial in vitro de cepas de *Trichoderma* comercial y nativo contra *Rhizopus* aislado de la rizosfera del cultivo de la parchita (*Passiflora Flavicarpa*)



Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020).

Para los valores de la variable PICR para *Trichoderma* Vs *Rhizopus*, se muestra la misma tendencia que los casos anteriores, donde los mayores valores fueron alcanzados al enfrentarse con las cepas de *Trichoderma* nativa, las cuales valores de PICR de 59 %, mientras que la cepa de *Trichoderma* comercial mostro una inhibición del 31.2% (figura 8).

Alguna investigaciones relacionadas con este género *Rhizopus* han señalado que se necesitan nuevas estrategias para alcanzar el objetivo crítico de controlar la podredumbre causadas por *Rhizopus* en frutos, por lo que este comportamiento observado pudiera inferir una manera de suprimir el desarrollo de este grupo de hongos (Salem y col., 2015).

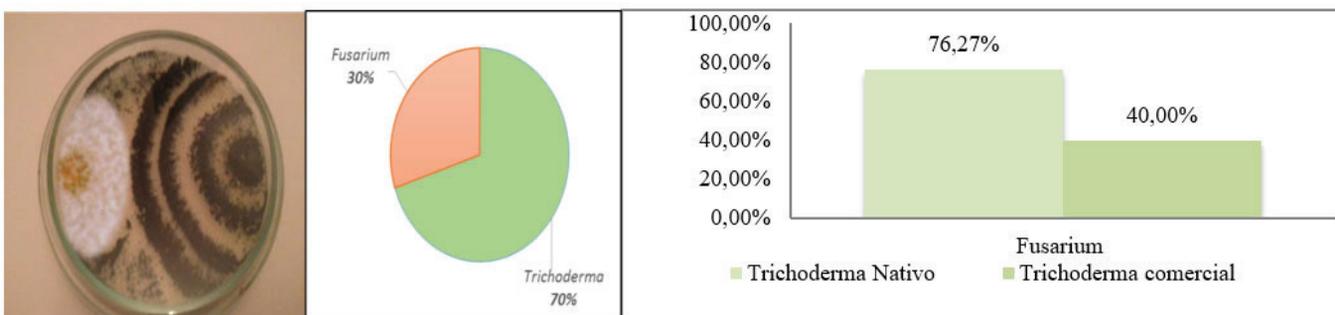
Trichoderma Vs *Fusarium*

En la figura 9 se puede observar diferencias entre los crecimientos duales *Trichoderma* con res-

pecto a *Fusarium*, en la misma se muestran los valores medio de velocidad de crecimiento de 1,4 cm al enfrentarse con la cepa de *Trichoderma* nativa, condición que se vio incrementada a crecer de manera dual con la cepa comercial, donde alcanzó valores de 3,5 cm, significando una diferencia significativa de 78% en relación al crecimiento individual de este género donde desarrollo valores medio de 5,9 cm. Mostrando *Trichoderma* un grado 2 dentro de la actividad antagonista ejercida en confortamiento con este patógeno.

De igual forma el análisis de varianza para la variable PICR para *Trichoderma* Vs *Fusarium*, mostro diferencias, apreciándose inhibición del crecimiento, donde los mayores valores fueron alcanzados al enfrentarse con las cepas de *Trichoderma* nativa, las cuales valores de PICR de 76,27%, mientras que la cepa de *Trichoderma* comercial mostro una inhibición del 40,0% (Figura 9)

Figura 9. Grado de actividad antagonista y porcentaje de inhibición del crecimiento radial in vitro de cepas de *Trichoderma* comercial y nativo contra *Fusarium* aislado del rizoplano del cultivo de la parchita (*Passiflora Flavicarpa*).

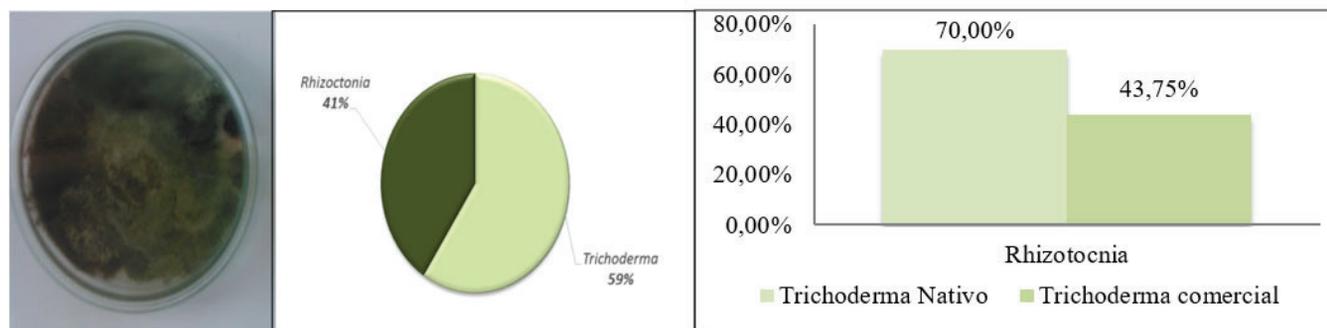


Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020).

Trichoderma Vs *Rhizotocnia*

En la figura 10, se visualizan diferencias entre los crecimientos duales con respecto a *Rhizotocnia*. El cual mostro valores medio de velocidad de crecimiento de 1,8 cm al enfrentarse con la cepa de *Trichoderma* nativa, condición que se vio incrementada a crecer de manera dual con la cepa comercial, donde alcanzó valores de 3,2 cm, significando una diferencia significativa de 55% en relación al crecimiento individual donde desarrollo valores medio de 4,7 cm.

Figura 10. Grado de actividad antagonica y porcentaje de inhibición del crecimiento radial in vitro de cepas de *Trichoderma* comercial y nativo contra *Rhizotocnia* sp aislado del rizoplano del cultivo de la parchita (*Passiflora Flavicarpa*).



Fuente: Acosta, González, Jiménez, Molina, Escaleras, Atencio (2020)

En relación a las cepas de *Trichoderma* aisladas de la rizosfera y rizoplano del cultivo Parchita contra los hongos fitopatógenos *Rhizotocnia* y *Fusarium*, los resultados obtenidos son avalados por Rodríguez (2002) y Rudy y col., (2011) los cuales señalan diferencias altamente significativa en la variable porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo biocontrolador *Trichoderma* sp. sobre los hongos patógenos *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. a los 3, 6 y 9 días y una tasa de inhibición de 71,67% a 85% para el antagonismo in vivo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* en condiciones de invernadero (Saravanakumar y col., 2015), redujo altamente el crecimiento de micelios de *F. solani* en un 86% (Rufin y col., 2016), *T. polysporum* mostró la mayor eficiencia para controlar la marchitez causada por *Fusarium* en el cultivo de melón con una tasa de PIRC de 44.85% (Tuão Gava y Pinto, 2016) *Trichoderma* redujo la supervivencia de *Rhizoctonia solani* en semillas de remolacha infestada a menos en un 30% (Lewis, 2001), en tomate pueden ser utilizados para el control *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* (Guédez y col., 2012; Santana y col., 2016), en parchita un porcen-

taje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de 70,56% (Suárez y col., 2009).

CONCLUSIONES

- Se aislaron e identificaron los géneros de hongos *Aspergillus*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Paecilomices* y *Trichoderma* presentes en la rizosfera del cultivo parchita *Passiflora flavicarpa*.
- Los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* fueron los hongos con mayor predominancia en la de la rizosfera del cultivo parchita *Passiflora flavicarpa*.
- Los mayores valores para la tasa de crecimiento libre correspondieron a la cepa de *Trichoderma* nativo aislado de la rizosfera del cultivo parchita *Passiflora flavicarpa*.
- El hongo antagonista *Trichoderma* ejerció un biocontrol efectivo sobre los hongos fitopatógenos aislados de la rizosfera del cultivo parchita *Passiflora flavicarpa*.
- Bajo las condiciones de estudio la cepa de

Trichoderma nativo aislado de la rizosfera del cultivo parchita *Passiflora flavicarpa* mostró los mejores PICR de los hongos fitopatogénos.

- Actividad antagónica de *Trichoderma* mostro un grado de inhibición de 1-3.

RECOMENDACIONES

- Evaluar la cepa de *Trichoderma* aislada en condiciones de campo de manera de visualizar el mantenimiento y estabilidad del inoculo en su capacidad antagonista contra patógenos de suelo en condiciones naturales in vivo.
- Realizar confrontaciones que permita evaluar el comportamiento de la cepa aislada con otros patógenos de cultivos de interés agrícola.
- Evaluar la efectividad de nuevas cepas comerciales como alternativas de biocontrol en el control de patógenos en otros cultivos.
- Evaluar a *Paecylomyces* como alternativa de biocontrol en el cultivo parchita y otros frutales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, M., 2011. Management of *Fusarium* wilt of tomato by soil amendment with *Trichoderma koningii* and a white sterile fungus. Indian J. Res. Anv. 5, 35–38.
- Ajith, P.S. y Lakshmidhevi, N., 2012. *Zygosporium masonii*, a new fungal antagonist against *Colletotrichum capsici* incitant of anthracnose on bell-peppers. J. Agric. Technol. 8, 931–939.
- Argumedo, R. Alarcón A., Ferrera, R. y Peña, J. 2009. El Género Fúngico *Trichoderma* y su Relación con Contaminantes Orgánicos e Inorgánicos Rev. Int. Contam. Ambient. 25 (4) 257-269
- Bae, H., Roberts, D., Lim, H., Strem, Park, Soo., Choong, R., Melnick, R., y Bailey, B. 2011 Endophytic *Trichoderma* Isolates from Tropical Environments Delay Disease Onset and Induce Resistance Against *Phytophthora capsici* in Hot Pepper Using Multiple Mechanisms, Volume 24, Number 3 Pages 336-351 <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-10-0221>
- Bae, S-J., Mohanta, T.K., Chung, J.Y., Ryu, M., Park, G., Shim, S., Hong, S-B., Seo, H., Bae, D-W., Bae, I., Kim, J-J., Bae, H. 2015. *Trichoderma* metabolites as Biological Control Agents against *Phytophthora* Pathogens, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.10.005>
- Baghalian, K., Haghiry, A., Naghavi, M. R., Mohammadi, A. 2008. Effect of saline irrigation water on agronomical and phytochemical characters of chamomile (*Matricaria recutita* L.) Scientia Horticulturae, Volume 116:4, 20 May, 437-441
- Briones H. Guillermo F. 2014. Efecto de *Trichoderma asperellum* sobre la incidencia y severidad de *Rhizoctonia solani* y *Gaeumannomyces graminis* en la zona de Daule. Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil. Tesis de Grado. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/8162>
- Cabello, M., Aon, M., John Hopkins, Velázquez, S. 2003. Diversity, structure, and evolution of Fungal Communities in soils under different agricultural management practices. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica; URL: http://aims.fao.org/serials/c_cb672e33
- Campos, Melissa 2009. Efecto de la inoculación de sustratos con *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento y producción de plantas de chile dulce (*Capsicum annuum*) bajo ambiente protegido. Proyecto de Graduación (Licenciatura en Ingeniería en Agronomía) Instituto Tecnológico de Costa Rica. <http://hdl.handle.net/2238/289>
- Casimiro, A., Michel, M., Otero, L., Solano, P. 2009 Biocontrol in vitro con *Trichoderma* spp. de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F. oxysporum Schlecht.*, Agentes Causales de la “Escoba de Bruja” del Mango (*Mangifera indica* L.) Volumen 27, Número 1
- Christopher, D.J., Raj, T.S., Rani, S.U., Udhayakumar, R., 2010. Role of defense enzymes activity in tomato as induced by *Trichoderma virens* against *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f sp. lycopersici. J. Biopest. 3, 158–162.
- Corporación de Desarrollo de la región zuliana. CORPOZULIA. Disponible en: <http://www.corpozulia.gob.ve/archivos/SUCRE%202010-2011.pdf>
- Dal Bello, G., Mónaco, C., y Cháves, A. 1997. Efecto de los metabolitos volátiles de *Trichoderma hamatum* sobre el crecimiento de hongos fitopatogénos procedentes del suelo. Rev Iberoam Micol vol. 14: pg.131-134
- Del Puerto R. Asela M; Suarez T., Palacio E., Daniel E. 2014, Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. Rev Cubana Hig Epidemiol [online]. vol.52, n.3.
- Delgado, S., Lozada B., Heidy Barrera Avendaño. Riqueza De Especies De Pasifloras (*Passiflora-*

- ceace). . 2008. Distribución Geográfica En Zonas Altas De Los Estados Andinos, Venezuela. GEO-ENSEÑANZA. Volumen 13 (1). enero - junio. p. 51-58 ISSN 1316-6077
- Dennis, C., Webster, J. 1971 Antagonistic Properties of Species-Groups of *Trichoderma*: II. Production of Volatile Antibiotics. Transactions of the British Mycological Society, 57, 363-369
- Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A. G. and Kubicek, C. P. (2006). The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. Mycoscience 47: 55-64
- Friedl, M., Druzhinina, I.S. 2012. Taxon-specific metagenomics of *Trichoderma* reveals a narrow community of opportunistic species that regulate each other's development. Microbiol. 158, 69–83.
- García R, Ricia R, Zambrano C, Gutiérrez L. 2006 Desarrollo de un fungicida biológico con base a una capa del hongo *Trichoderma harzianum* proveniente de la región Andina Venezolana. En memorias del taller Latinoamericano. Biocontrol con *Trichoderma* y otros antagonistas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ciudad de La Habana del 28-31.
- García, M. 2002. Guía Técnica cultivo de Maracuyá Amarillo, centro nacional de tecnología agropecuaria y forestal. El Salvador www.intep.edu.co/Es/Usuarios/Institucional/file/.../Guia_Maracuya-INTEP-2014.pdf. 49p.
- García, R., Urbina, F., González, F., Gutiérrez, Mora, R., Zerpa J., Infante, B. (2010). Estrategias de producción e incorporación de *Trichoderma harzianum*, cepa T12-andina, para el manejo de enfermedades fungosas de cultivos agrícolas en comunidades del estado de Mérida, Venezuela. AGRIS: International Information System for the Agricultural Science and Technology.
- González Lucia, Acosta K, Escalera J, Atencio K, Molina G, Jiménez I. 2018. Comparación de la velocidad de crecimiento de inóculos comerciales y cepas nativas de *Trichoderma* como alternativas de control de hongos de suelos. REDIELUZ 1(8):113-122.
- González S., J. C., Maruri G., J. M. y González A. 2005. Evaluación de diferentes concentraciones de *Trichoderma* contra *Fusarium oxysporum* agente causal de la pudrición de plántulas de papaya (*Carica papaya* L.) en Tuxpan, Veracruz, México. Revista UDO Agrícola 5 (1): 45-47.
- Guédez, C. Cañizalez, L., Castillo, C., Olivar, R. 2012. Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate, Rev. Soc. Ven. Microbiol. vol.32 no.1
- Guigón, César., Guerrero, V., Vargas, F., Carvajal, E., Ávila, G., Bravo L., Ruocco, M., Lanzuise, S., Woo, S. y Lorito, M. 2010. Identificación Molecular de Cepas Nativas de *Trichoderma* spp. su Tasa de Crecimiento in vitro y Antagonismo contra Hongos Fitopatógenos. Rev. mex. fitopatol vol.28.
- Harman, G., Björkman T., Ondik K., Shoshani M. 2004. Changing Paradigms on The Mode of Action And Uses of *Trichoderma* Spp. For Biocontrol. Department of Horticultural Sciences, Cornell University, Geneva, USA.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. Microbiol. 2, 43–56p.
- Herrera R., Iñiguez, R. 2014. Evaluación en laboratorio de la capacidad antagonista de *Trichoderma* spp., frente al crecimiento de lanosa (*Rosellinia* spp.), en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) Tesis de Grado. Facultad De Industrias Agropecuarias Y Ciencias Ambientales. Universidad Politécnica Estatal Del Carchi. Ecuador. <http://repositorio.upec.edu.ec/handle/123456789/44>
- Jaklitsch, W.M., Voglmayr, H. 2015. Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. Studies Mycol. 80, 1–87.
- Joanna Łażniewska, Violetta Katarzyna Macioszek, Andrzej Kiejstut Kononowicz. (2012) Plant-fungus interface: The role of surface structures in plant resistance and susceptibility to pathogenic fungi Review article Physiological and Molecular Plant Pathology, Volume 78, April, Pages 24-30.
- Júlia C., Gonzales; Guilherme, T.P; Brancina, Gabriela; Rodrigues; Geraldo José Silva-Junior; Luciano Bachmann; MarkWainwright; Gilberto Ú.L.Bragaa 2017. Photodynamic inactivation of conidia of the fungus *Colletotrichum abscissum* on *Citrus sinensis* plants with methylene blue under solar radiation. Volume 176, November Pages 54-61.
- Lagrouh., F. N. Dakka, Y. BakriThe. 2017. Antifungal activity of Moroccan plants and the mechanism of action of secondary metabolites from plants. Journal De Mycologie Médicale. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.04.008>.

- Marko Vinceković, Marko Viskiđ, Slaven Juriđ, Jasminka Giacometti, Anet Režek Jambrak. 2017. Innovative technologies for encapsulation of Mediterranean plants extracts. Trends in Food Science & Technology, Volume 69, pages 1-12.
- Mastouri, F., Björkman, T., Harman, G.E. 2012. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. Mol. Plant-Microbe Interactions 25, 1264–1271.
- Mehta, C.M. 2014. Compost: Its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. Waste Management <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.11.012>.
- Michel-Aceves, A.C., Otero-Sánchez, M.A., Rebolledo-Domínguez, O., Lezama-Gutiérrez, R., Ariza-Flores, R. y Barrios-Ayala, A. 2005. Producción y efecto antagónico de quitinasas y glucanasas por *Trichoderma* spp., en la inhibición de *Fusarium subglutinans* y *Fusarium oxysporum* in vitro. Revista Chapingo, Serie Horticultura 11:273-278.
- Michel-Aceves, A.C., Reyes-De La Cruz, A., Otero-Sánchez, M.A., Rebolledo-Domínguez, O. y Lezama-Gutiérrez, R. 2009. Potencial Antagónico de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* *Schlechtend.*:Fr. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen y *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) in vitro e invernadero. Revista Mexicana de Fitopatología 23:284-291.
- Montoro, Y. Moreno, R. Gomero, L. y Reyes, M. 2009. Características de uso de plaguicidas químicos y riesgos para la salud en agricultores de la sierra central del Perú. Rev. perú. med. exp. salud publica [online]., vol.26, n.4.
- Muñoz, T y Jacinto D. 2017. Evaluación de *Trichoderma harzianum* para el control de la pudrición blanca en el cultivo de *Allium cepa*. (cebolla de bulbo)". Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. Tesis de Grado. Repositorio Digital. UTA. <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/24791>.
- Parizi, E., Elaminejad, A. 2012. Evaluation of the potential of *Trichoderma viride* in the control of fungal pathogens of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in vitro. US National Library of Medicine National Institutes of Health.
- Pelagio, R., Esparza, S., Garnica, A., López, J., y Herrera, A., 2017. *Trichoderma*-Induced Acidification Is an Early Trigger for Changes in Arabidopsis Root Growth and Determines Fungal Phytostimulation.. Front Plant Sci.; Vol 8: Pg 822.
- Pérez N, Infante C, Rosquete C, Ramos A, González C. 2010. Disminuyendo la relevancia de los plaguicidas. Alternativas a su uso. Agroecología [Internet]; 5:79-87. Disponible en:http://www.digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/29773/1/Disminuyendo_la_relevancia_de_los_plaguicidas._Alternativas_a_su_uso.pdf.
- Qualhato, T., Cardoso, F., Steindorff, A., Silva, R. 2013. Mycoparasitism studies of *Trichoderma* species against three phytopathogenic fungi: evaluation of antagonism and hydrolytic enzyme production. Volume 35, Issue 9, pg. 1461–1468.
- Raspanti, E., Cacciola, O., Gotor L., Romero, I. 2009. Implications of cysteine metabolism in the heavy metal response in *Trichoderma harzianum* and in three *Fusarium* species. Volume 76, Pages 48-54.
- Reithner, B., Ibarra-Laclette, E., Mach, R.L., Herrera-Estrella, A. 2011. Identification of 627 mycoparasitism-related genes in *Trichoderma atroviride*. Appl. Environ. Microbiol. 77,628 4361–4370.
- Rey, M., Delgado, J., Rincón, A., Limón, C. y Benítez, T. 2000 Mejora de cepas de *Trichoderma* para su empleo como biofungicidas, Rev Iberoam Micol vol.17: pg 31-S36.
- Reyes, Y., Martínez, B. Infante, D. 2008. Evaluación de la Actividad Antagónica de Trece Aislamientos de *Trichoderma* Spp. Sobre *Rhizoctonia* Sp. Rev. Protección Veg. Vol. 23 No. 2 pg. 112-117.
- Salinas, H. 2014. Guía Técnica para El Cultivo de “Maracuyá Amarillo” Instituto de Educación Técnica Profesional de Roldanillo Valle Colombia.
- Seaby, D. 1996. Development of SCAR marker for Specific Detection of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* differentiation of *Trichoderma* taxa associated with mushroom production. Plant Pathol 45: 905-912.
- SENA., 2014 Manual Técnico del cultivo de Maracuyá bajo Buenas Prácticas Agrícolas, Gobernación de Antioquia Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Sharma, A. Mehta. C.M., Palni, H. Franke, C., (2017) Compost: Its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. Waste Management journal homepage: www.elsevier.com/locate/wasman.
- Vallejo, M. 2014. Caracterización y clasificación de *Trichoderma* nativos aplicando diferentes medios de cultivo a nivel de laboratorio artesanal. Universidad Técnica de Ambato. Trabajo de grado académico de magister en agroecología y ambiente. 118p.

- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., and Lorito, M. 2008. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.* 40:1–10.
- Widmer, T. 2006. Screening *Trichoderma* species for biological control activity against *Phytophthora ramorum* in soil. *Control Volume 79*, December Pages 43-48.
- Widmer, T. 2014. Screening *Trichoderma* species for biological control activity against *Phytophthora ramorum* in soil. *Biological Control journal homepage: www.elsevier.com/locate/ybcon*
- Woo, S., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Lanzuise, S., Manganiello, G., Lorito, M. 2014. *Trichoderma*-based Products and their Widespread Use in Agriculture, ISSN: 1874-4370 — Volume 8 Pg. 71–126.
- Yucra S, Gasco M, Rubio J, Gonzales GF. 2008. Exposición ocupacional a plomo y pesticidas organofosforados: efecto sobre la salud reproductiva masculina. *Rev Perú Med Exp Salud Publica.*; 25(4): 394-402.
- Zachow C., Berg, C., Müller H., Mon. J., Berg G., 2015. Endemic plants harbour specific *Trichoderma* communities with an exceptional potential for biocontrol of phytopathogens. *Journal of Biotechnology.* 1-33pp.
- Zavaleta M. E. 1999. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas Terra Latinoamericana [en línea], Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57317304>> ISSN.