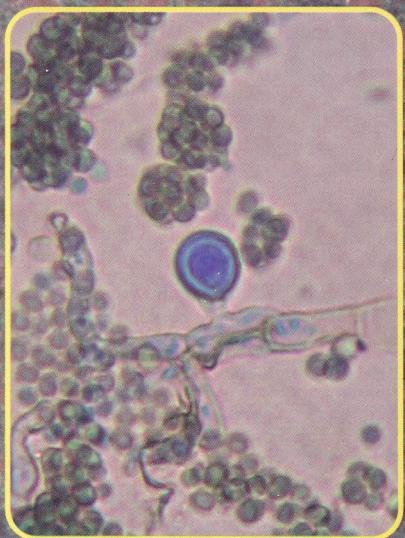


Trichoderma spp.

Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café



**Ángela María Castro Toro
Carlos Alberto Rivillas Osorio**



Ministro de Hacienda y Crédito Público

Mauricio Cárdenas Santamaría

Ministro de Agricultura y Desarrollo Rural

Juan Camilo Restrepo Salazar

Ministro de Comercio, Industria y Turismo

Sergio Díaz Granados

Director del Departamento Nacional de Planeación

Mauricio Santa María

COMITÉ NACIONAL

Período 1º enero/2011- diciembre 31/2014

Álvaro Peláez Gómez

Mario Gómez Estrada

Carlos Alberto Gómez Buendía

Carlos Roberto Ramírez Montoya

Luis Javier Trujillo Buitrago

Darío James Maya Hoyos

Jorge Julián Santos Orduña

Fernando Castro Polanía

Fernando Castrillón Muñoz

Javier Bohórquez Bohórquez

Crispín Villazón de Armas

Iván Pallares Gutiérrez

Jorge Cala Roballo

Carlos Alberto Eraso López

Alfredo Yáñez Carvajal

Gerente General

LUIS GENARO MUÑOZ ORTEGA

Gerente Administrativo

LUIS FELIPE ACERO LÓPEZ

Gerente Financiero

JULIÁN MEDINA MORA

Gerente Comercial

ANDRÉS VALENCIA PINZÓN

Gerente Comunicaciones y Mercadeo

LUIS FERNANDO SAMPER GARTNER

Gerente Técnico

RICARDO VILLAVECES PARDO

Director Programa de Investigación Científica

Director Centro Nacional de Investigaciones de Café

FERNANDO GAST HARDERS

Los trabajos suscritos por el personal técnico del Centro Nacional de Investigaciones de Café son parte de las investigaciones realizadas por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Sin embargo, tanto en este caso como en el de personas no pertenecientes a este Centro, las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente las opiniones de la Entidad.

El uso de nombres comerciales en esta publicación tiene como propósito facilitar su identificación y en ningún momento su promoción.

Una publicación de Cenicafé

Editor: Sandra Milena Marín López, I.A.

Diseño y
Diagramación: María del Rosario Rodríguez Lara

Fotografía: Gonzalo Hoyos, Ángela María Castro, Carlos A. Rivillas

Impresión: Espacio Gráfico Comunicaciones S.A.

Editado en mayo de 2012
3.500 ejemplares

©FNC- Cenicafé 2012



**GERENCIA TÉCNICA
PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA**

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ
"Pedro Uribe Mejía"

Cenicafé

***Trichoderma spp.*
Modos de acción, eficacia y
usos en el cultivo de café**

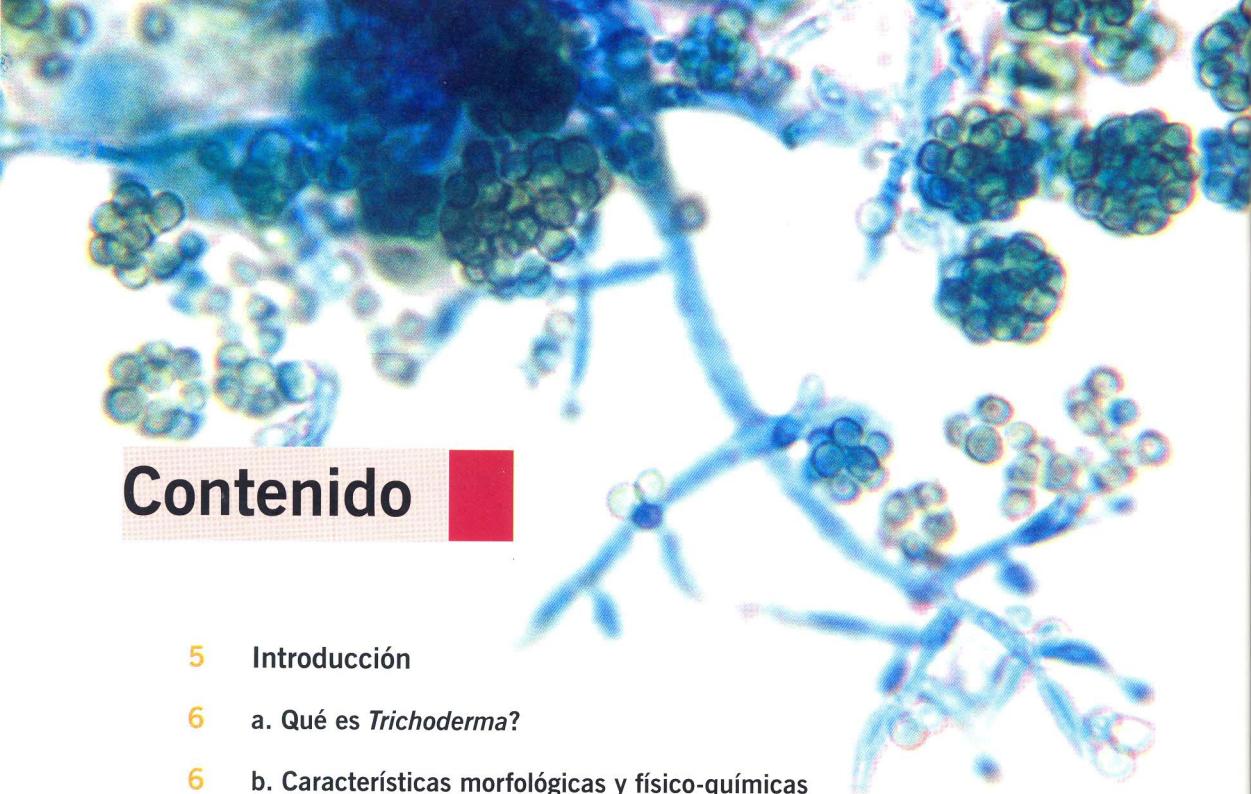
Ángela María Castro-Toro*
Carlos Alberto Rivillas-Osorio**

* Bacterióloga, M.Sc. en Fitopatología.
Organización de Industrias Unidas

S.A. Orius Biotecnología.

** Investigador Científico III.

Fitopatología. Centro Nacional de
Investigaciones de Café, Cenicafé.
Chinchiná, Caldas, Colombia.



Contenido

- 5 Introducción
- 6 a. Qué es *Trichoderma*?
- 6 b. Características morfológicas y físico-químicas
- 6 c. Mecanismos de acción de *Trichoderma* spp.
- 10 d. Otros mecanismos de acción de *Trichoderma* spp.
- 14 e. *Trichoderma* como endófito de plantas
- 14 f. *Trichoderma* en la biotecnología
- 15 g. Limitaciones con el uso de *Trichoderma* en la agricultura
- 16 h. Formulaciones del hongo *Trichoderma*
- 16 i. Perspectivas del uso de *Trichoderma* spp. en la biorregulación de patógenos foliares
- 17 j. Logros y recomendaciones con el uso de *Trichoderma* en el cultivo de café
- 28 Literatura citada

Introducción

En el suelo se conoce un grupo importante de formas de vida, desde mamíferos cavadores, insectos, hongos, bacterias hasta algas, en cantidades considerables. Los hongos son los organismos que contribuyen en un mayor porcentaje a la biomasa del suelo, constituyendo alrededor del 70% en peso. Las bacterias pueden, en algunas circunstancias, llegar a ser más importantes en la rizosfera. En los suelos anegados, se incrementa la importancia de las bacterias anaeróbicas. Las algas verdes azules son fotosintéticas e importantes en la agricultura, donde existe una fuente abundante de agua en la superficie del suelo y luz solar, con el fin de fijar el nitrógeno atmosférico. De la misma manera, las bacterias diazotróficas, las cuales juegan un papel importante en la fijación del nitrógeno atmosférico, en una forma más disponible, como es el amonio (8).

Dentro de la gran diversidad de la biota nativa del suelo se encuentra un grupo de microorganismos que son beneficiosos para la agricultura, como bacterias,

micorrizas y diferentes clases de hongos. Éstos permiten en parte, aumentar el crecimiento y desarrollo de las plantas, y por otro lado, protegerlas del ataque de organismos del suelo que causan enfermedades. Las bacterias y las micorrizas, desempeñan un papel importante en el aspecto nutricional de la planta, y a su vez, protegen de manera indirecta a la planta frente al ataque de organismos patógenos. Los hongos benéficos cumplen una función directa como biorreguladores de organismos patógenos. Este efecto es aprovechado por el hombre para la regulación de estos organismos no deseados cuyo hábitat puede ser el suelo, las raíces o la parte aérea de las plantas.

Los microorganismos antagonistas contribuyen a atenuar los daños causados por las enfermedades en los agroecosistemas donde existan condiciones para su crecimiento, desarrollo y conservación. Para lograr esto, los microorganismos benéficos presentan diferentes modos de acción, que les permite ejercer ese efecto biorregulador de patógenos,

aspecto que sumado a la capacidad de multiplicarse abundantemente les confiere una característica importante para ser seleccionados como agentes de control biológico (32). Respecto a los mecanismos de acción que intervienen en las interacciones entre los antagonistas y los patógenos, están la antibiosis, la competencia por espacio y nutrientes, las interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática) y la inducción de resistencia en las plantas. El fundamento de equilibrar las poblaciones de patógenos en el suelo o en la parte aérea de la planta, empleando agentes de biocontrol, mediante procesos manipulados por el hombre, dependerá en gran parte de factores como la temperatura, humedad y pH del suelo, origen del antagonista, época de introducción del mismo, mecanismos de acción, densidad de inóculo del patógeno donde se origina y tasa de multiplicación del antagonista, entre otros.

Dentro del grupo de organismos antagonistas de patógenos, se destaca la utilización de bacterias como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pasteuria* y *Streptomyces*. En el grupo de los hongos, los más utilizados para combatir enfermedades de fitopatógenos están

los hongos de los géneros *Paecilomyces*, *Gliocladium* y *Verticillium*. Uno de los hongos ampliamente estudiado y aplicado en el control biológico, es el hongo del género *Trichoderma*. Las especies pertenecientes a este género se presentan de forma natural en la mayoría de los suelos de uso agrícola, teniendo una gran capacidad de adaptarse a diferentes ambientes, como condiciones de luz, temperatura, pH y humedad, alta capacidad reproductiva, habilidad para colonizar raíces, plasticidad ecológica, efecto estimulante sobre los cultivos, acción como inductor de resistencia sistémica en la planta, capacidad de afectar una amplia gama de hongos patógenos, además, no son tóxicos en humanos, animales y plantas, y no contaminan el ambiente. Pueden ser aplicados desde la etapa de semillero, al momento de transplante y en la plantación definitiva. Todas estas características le confieren a *Trichoderma* spp. la posibilidad de ser utilizado en la industria agrícola y la biotecnología.

En este Boletín Técnico se presentan algunos aspectos sobre el género *Trichoderma*, características de crecimiento y desarrollo, modo de acción y su uso en café y otros cultivos para el manejo de enfermedades.

a. Qué es *Trichoderma*?

Es un hongo Deuteromycete cuyo estado sexual es *Hypocrea*. El hongo *Trichoderma* fue identificado por Persoon en el año 1794, aislado de un material recolectado en Alemania (51), fecha desde la cual el hongo ha sido ampliamente estudiado. *Trichoderma* es un hongo aerobio facultativo, que se encuentra de manera natural en diferentes suelos agrícolas y en otras condiciones, especialmente en aquellas que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición.

b. Características morfológicas y físico-químicas

Macroscópicamente el hongo presenta un micelio blanco algodonoso, que se torna de color verde, debido a la rápida y abundante esporulación (Figura 1). Es un hongo que posee conidias hialinas, uniceluladas y ovoides, que tienden a agregarse formando masas; presenta un conidióforo hialino, largo y no verticilado (Figura 2). Tiene la capacidad de producir clamidosporas que son globosas o subglobosas, ubicadas en la parte terminal

o intermedia de las hifas y miden menos de 15 µm de diámetro; éstas son estructuras de resistencia, vitales e importantes para la sobrevivencia del hongo bajo condiciones adversas (50).

El rango de temperatura para el crecimiento de *Trichoderma* oscila entre 15 y 30°C, con un óptimo de 25°C, temperaturas mayores a 30°C limitan el crecimiento y desarrollo del hongo, e inicia la formación de clamidosporas. Las condiciones adecuadas de humedad están en el 70%, sin embargo, tiene la capacidad de crecer en una rango entre 20% y 80%. La condición de pH fluctúa entre 5,5 y 7,5, con un óptimo de 6,6. Si se encuentra en medios con pH alcalinos (por encima de 7,0) tiene la capacidad de acidificar el medio mediante la liberación de ácidos orgánicos (42).

c. Mecanismos de acción de *Trichoderma* spp.

Son tres los mecanismos involucrados en la biorregulación de organismos patógenos por parte de *Trichoderma* (6, 25, 33).

1. Micoparasitismo. Es considerado el mecanismo



Figura 1. Aspecto *in vitro* y crecimiento de *Trichoderma harzianum*, ocho días después de sembrado en el medio de cultivo PDA.

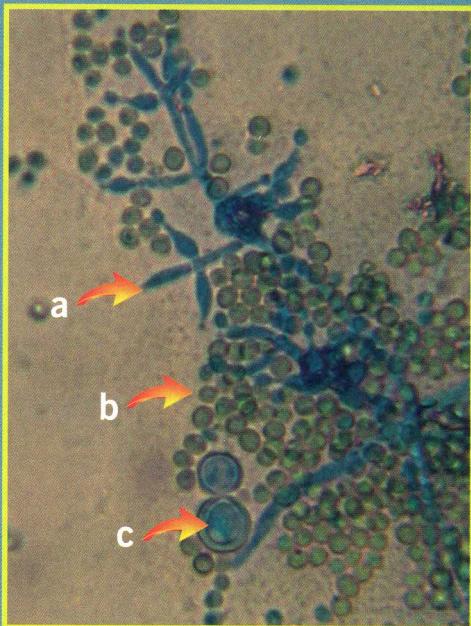


Figura 2. a. Conidióforo, b. conidias y c. clamidosporas de *Trichoderma harzianum* (Tricho-D®).

de acción más importante, ya que es un proceso complejo donde está involucrado la producción de enzimas líticas tales como quitinasas,

glucanasas, celulasas, xylanasas, laminarinasas, esterasas, glucosidasas, lipasas y proteasas. En el micoparasitismo la hifa de *Trichoderma* entra en

contacto con la hifa del hongo patógeno e inicia un crecimiento alrededor de la hifa, y por acción enzimática comienza la degradación de la hifa del patógeno; posteriormente, ocurre penetración por parte del hongo antagonista, causando degradación celular, rompimiento hifal y destrucción total de la hifa del patógeno.

López *et al.* (35), hacen referencia al micoparasitismo de *Trichoderma* relacionado con la expresión de genes y su respectiva actividad enzimática. Para ello, seleccionaron nuevos aislamientos de *Trichoderma harzianum* con alta actividad antagonista contra *Fusarium oxysporum*. Se analizaron 31 aislamientos por RAPD-PCR y se seleccionaron las cepas T-30 y T-78, las cuales mostraron la más alta actividad de las enzimas N-acetylglucosaminidasa (codificada por los genes exc1 y exc2), Quitinasa (Chit 42 y Chit 33), Proteasa (prb1) y β-1.3-glucanasa (bgn 13.1). Esta alta actividad enzimática muestra el gran potencial micoparasítico de *Trichoderma* contra *F. oxysporum*, siendo una estrategia conveniente para evitar el incremento de pesticidas químicos al momento de manejar enfermedades fitopatógenas causadas por este hongo.

2. Antibiosis. *Trichoderma* tiene la capacidad de producir compuestos orgánicos volátiles, como 2-propanona, 2-metil-1-butanol, heptanal, octanal, nonanal y decanal. La actividad antibiótica como tal, se refiere a los compuestos no volátiles, dentro de los cuales existe un gran número de compuestos de importancia en la actividad biorreguladora de patógenos, algunos de ellos son harzianolida, alameticina, tricolina, viridina, gliovirina, gliotoxina, 6-pentil- α -pirona, isonitrina, trichodermina, suzucacilina y trichorziánina. Estos compuestos juegan un papel importante inhibiendo el crecimiento y desarrollo de microorganismos patógenos. La combinación de enzimas líticas y antibióticos resulta con un alto nivel de antagonismo frente a organismos patógenos.

3. Competencia. La competencia por espacio o por nutrientes ha sido considerada uno de los mecanismos clásicos de biocontrol de *Trichoderma*. Este hongo tiene una rápida tasa de desarrollo, lo que hace que sea un fuerte competidor por espacio, a la hora de colonizar la rizosfera. Por otra parte, *Trichoderma* tiene una capacidad superior de movilizarse y tomar los nutrientes del suelo, siendo muy versátil para utilizar

sustratos como fuente de carbono y nitrógeno, lo que le permite colonizar un medio rápidamente, evitando la proliferación de otros microorganismos en el mismo hábitat. Anke et al. (5), reportaron la producción de sideróforos por *Trichoderma* spp; estos autores, registraron la producción de hidroxamato como un tipo de sideróforo producido por este hongo, convirtiéndolo en un fuerte competidor por el hierro del suelo, el cual es necesario para la sobrevivencia de otros organismos.

Diferentes especies del género *Trichoderma* han sido ampliamente estudiadas y valoradas como antagonistas de patógenos (16, 19, 31).

González et al. (22), con el uso de *T. harzianum* y *T. viride*, en condiciones de campo, obtuvieron una protección del 87% en las raíces de plantas de frijol al ataque de *Rhizoctonia solani* y *Macrophomina phaseoli*. Muiño et al. (40), emplearon diferentes especies de *Trichoderma* en la biorregulación de patógenos como *Meloidogyne*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium* y *Rhizoctonia* en hortalizas, ornamentales y flores. Pérez et al. (44), en el cultivo de plátano, observaron que *T. harzianum* redujo en 95% la incidencia y la severidad de

la marchitez por *Fusarium oxysporum*. Trujillo et al. (55), en el cultivo de la papa, para el manejo del tizón temprano, demostraron que al aplicar *T. harzianum*, se obtuvo un nivel superior al alcanzado con los estándares químicos al ataque de *Alternaria solani*; en este mismo trabajo observaron que hubo una reducción en la contaminación por agroquímicos del 75% y 100% de los costos por concepto de insumos. Stefanova (54), menciona que en hortalizas como habichuela, ají, rábano, perejil y remolacha, se alcanzó una alta eficacia por parte de *Trichoderma* spp. para regular diversos patógenos como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Pythium* sp.

En un área de 13,37 hectáreas de semilleros de tomate y pimentón, se obtuvo el 100% de plántulas sanas y vigorosas, controlando en casi su totalidad las infecciones radicales producidas por los hongos fitopatógenos después del transplante, con incrementos en la cosecha por área plantada. Los rendimientos de las unidades tratadas con *Trichoderma* spp. superaron en 6,5 toneladas a las que no recibieron el tratamiento biológico. El uso de *Trichoderma* está incluido en el manual

técnico de organopónicos y huertos especiales de la agricultura urbana en Cuba (40), dentro de las medidas fitosanitarias específicas para las áreas de semilleros. La producción de biopreparados de *Trichoderma* ocupa el segundo lugar, superada solamente por *Bacillus thuringiensis*. En el año 2003 se produjeron 179,75 toneladas de biopreparados de este biorregulador, con una aceptación generalizada.

Así mismo, se hace referencia al hongo antagonista *Trichoderma* spp. como un biorregulador efectivo contra nematodos del género *Meloidogyne*, por medio de sus toxinas e hifas. Se estudió el efecto de *T. harzianum* y *T. viride*, evaluando la acción de los antagonistas sobre la eclosión de huevos y la población de nematodos en suelo inoculado e infestado, comparándolos con otros productos de acción nematicida en plantaciones de café y viveros de ornamentales. *Trichoderma* redujo la eclosión de huevos y la movilidad de larvas a concentraciones mayores de 10^8 conidias/g. La eficacia del hongo en el suelo se incrementó a medida que éste se estableció. En tomate, se aplicó *T. harzianum* cepa A-34 a una dosis de 8,0 kg/ha, en diferentes fases del cultivo, observando una disminución

significativa de la población de nematodos del género *Meloidogyne*. La severidad de la infección se redujo de los grados 3 y 4 al grado 1. La cepa de *Trichoderma* A-34 se usa aplicándola directamente al suelo previo a la siembra, con una dosis única de 25 g/m², alcanzando una efectividad entre 52% y 82% contra los nematodos formadores de agallas. Sahebani y Hadavi (49), en el cultivo de tomate, para la biorregulación del nematodo *Meloidogyne javanica*, emplearon a *T. harzianum*, demostrando un parasitismo directo sobre los huevos del nematodo, un incremento de la actividad de la enzima quitinasa y una inducción de los mecanismos de defensa de la planta para suprimir significativamente la presencia del nematodo.

Pocasangre et al. (45), evaluaron dos aislamientos de *Trichoderma atroviride* (T1 y T2) con el fin de determinar su acción biorreguladora del nematodo *Radopholus similis* en plantaciones de banano. Los resultados mostraron que al aplicar el producto biológico, se obtuvieron cantidades inferiores del nematodo en comparación con el tratamiento químico. Especialmente con *T. atroviride* T2, estadísticamente se presentó menor densidad de fitonematodos, en

comparación con la aplicación química, registrando 13.468 nematodos/100g de raíz y 28.113 nematodos/100g de raíz, respectivamente. Estos resultados sugieren que una sola aplicación con este hongo endofítico protege la planta contra el ataque de fitonematodos, por un período de nueve meses, y puede sustituir las tres aplicaciones de nematicidas en plantaciones en renovación. Sin embargo, los autores sugieren, que se deben realizar estudios tendientes a conocer la duración de la protección de la planta, debido a que el banano es un cultivo perenne y posiblemente exista un efecto de transferencias de protección de la planta madre al hijo de sucesión, debido a que estos hongos pueden translocarse de la madre al hijo. En este mismo trabajo, en relación con la sanidad radical, la producción de raíz funcional, indica que los tratamientos con los hongos endofíticos obtuvieron mayor peso de raíz con respecto al testigo absoluto y al tratamiento químico, y se observó que las plantas inoculadas con los dos aislamientos de *Trichoderma* presentaron menor cantidad de raíz muerta en comparación con las plantas tratadas con el producto químico.

Recientemente, Affokpon et al. (1), demostraron la gran habilidad de diferentes especies nativas de *Trichoderma* (*T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. brevicompactum*, *T. hamatum*) para colonizar la rizosfera de plantas de tomate. Estas especies se aislaron de masas de huevos del nematodo formador de agallas, con el fin de evaluar su potencial como biorreguladores del nematodo *Meloidogyne incognita* en el mismo cultivo. Los resultados de este trabajo, demostraron que la inoculación de *Trichoderma* spp. de manera preventiva, pudo reducir significativamente la cantidad del estado J2 del nematodo, tanto en el suelo como en las raíces, la cantidad de huevos y el número de agallas presente en las raíces de las plantas de tomate. Además, se observó un mejor desarrollo radical de las plantas en comparación con las plantas no tratadas con los antagonistas. Los mismos autores, hacen referencia que la combinación de especies ha sido recomendada, para optimizar el potencial beneficio de varios agentes. Sin embargo, algunos estudios han demostrado el efecto negativo en las aplicaciones al mezclar varios aislamientos, con incompatibilidad entre ellos, mostrando una menor

efectividad que la aplicación de un solo aislamiento. Por tal motivo, la identificación y la valoración de las combinaciones son importantes.

Algunos autores han demostrado que *Trichoderma* spp. interactúa positivamente con otra clase de organismos benéficos. Martínez et al. (37), evaluaron la interacción de cuatro especies de micorrizas arbusculares (*Glomus intraradices*, *G. mosseae*, *G. claroideum* y *G. constrictum*) y *Trichoderma harzianum* en plantas de melón, bajo dos condiciones de fertilidad del suelo (tradicional y baja), con el fin de valorar el crecimiento de las plantas y la incidencia de la marchitez producida por el hongo patógeno *Fusarium* spp.; se obtuvo un efecto de sinergismo de *T. harzianum* con las micorrizas arbusculares (MA) *G. constrictum* o *G. intraradices*, en las condiciones de baja fertilidad del suelo. Con la reducción del fertilizante, las plantas inoculadas con *T. harzianum* y las plantas inoculadas con las micorrizas, tuvieron un mayor peso aéreo y mostraron un mejor estado nutricional, pero con la combinación de las MA y *Trichoderma* no se apreció un efecto adicional en el crecimiento de las plantas. En relación con el control

del hongo patógeno, *Glomus mosseae* mostró una gran capacidad para reducir la incidencia de la enfermedad causada por *Fusarium*, mientras que *T. harzianum* fue más efectivo que la micorriza controlando el hongo patógeno. Sin embargo, la inoculación combinada de las MA y *T. harzianum* produjo un mayor efecto de control de *Fusarium* en comparación con la inoculación de las micorrizas solas, mostrando un efecto similar al observado en las plantas inoculadas solamente con *T. harzianum*.

d. Otros mecanismos de acción de *Trichoderma* spp.

1. Promotor del desarrollo vegetativo. Raíces colonizadas por *Trichoderma* spp. frecuentemente aumentan el crecimiento, desarrollo, productividad del cultivo, resistencia a estrés abiótico e incremento en la toma y uso de nutrientes. Se ha demostrado que la productividad de un cultivo en el campo puede incrementarse en más del 300% después de la aplicación de *T. hamatum* o *T. koningii*. Diferentes especies del género *Trichoderma* producen

factores de crecimiento, los cuales han sido detectados e identificados en el laboratorio, como son las auxinas, citoquininas y etileno. También se ha descrito la producción de fitohormonas, tales como indol, ácido acético y etileno. Por otra parte, *Trichoderma* spp. produce moléculas de citoquininas y giberelinas GA3, involucradas en eventos de estimulación de crecimiento y desarrollo de las plantas. En adición a las características anteriormente mencionadas, *Trichoderma* tiene la capacidad de acidificar el entorno en que se encuentra por la secreción de ácidos orgánicos como ácido glucánico, cítrico y fumárico. Estos ácidos orgánicos resultan del metabolismo de otras fuentes de carbono, principalmente glucosa, trayendo consigo la solubilización de fosfatos, micronutrientes y minerales incluyendo el hierro, magnesio y manganeso (6).

En relación con la promoción del desarrollo de las plantas, algunos autores han demostrado este beneficio prestado por *Trichoderma*. Chang *et al.* (15), mencionan a *T. harzianum* como un inductor del crecimiento y desarrollo de hortalizas y flores. Yedidia *et al.* (60), demostraron que *T. harzianum* T-203, incrementó en 30% la germinación de semillas

de pepino y estas mismas plantas presentaron un incremento del 95% del área radical, 45% de la altura del vástago y 80% de área foliar, al compararlas con las plantas que no fueron inoculadas con el hongo. En este mismo trabajo, se observó un incremento de 90% y 30% de fósforo y hierro, respectivamente, por parte de las plantas inoculadas.

Rojan *et al.* (47), en un estudio realizado con *Trichoderma viride* en un cultivo de soya, además de observar el efecto protector frente al ataque de *Fusarium oxysporum* y *Pythium arrhenomanes*, hongos patógenos que disminuyen en un alto porcentaje la germinación de la semilla y, en general, todos los estados de desarrollo de la planta, registraron que *T. viride* proporcionó un mayor crecimiento de las plantas, evidenciado en un mayor peso seco de tallo, raíz y frutos y mayor producción, en comparación con las plantas testigo y las inoculadas con los patógenos. Los autores discuten que los metabolitos secundarios, como las auxinas, juegan un papel importante en la promoción del crecimiento de las plantas en la interacción planta-*Trichoderma*.

2. Estimulador de los mecanismos de defensa de las plantas. La habilidad de diferentes especies de *Trichoderma* de proteger las plantas contra patógenos radicales ha sido atribuida a un efecto antagónico contra la invasión del patógeno. Sin embargo, las asociaciones hongo-raíz también estimulan los mecanismos de defensa de las plantas. *Trichoderma* ejerce una protección a las plantas frente a patógenos que producen daños radicales y aéreos, inclusive infecciones virales. Estos mecanismos de inducción de resistencia son similares a la respuesta hipersensitiva, resistencia sistémica adquirida y resistencia sistémica inducida "RSI" en plantas.

A nivel molecular, la resistencia resulta en un incremento de la concentración de metabolitos y enzimas relacionadas con los mecanismos de defensa, como la enzima Fenil-alanina amonio-liasa involucrada en la biosíntesis de fitoalexinas, quitinasas y glucanasas. Los genes de las plantas responden a patógenos o elicidores, por esta razón, los mecanismos de defensa de las plantas no necesariamente requieren de la estimulación de un agente vivo. La adición de metabolitos de *Trichoderma* que actúan como elicidores a la resistencia de la planta,

o la expresión de genes en plantas transgénicas, quienes producen acciones como elicidores, también resulta en la síntesis de fitoalexinas, proteínas y otros compuestos, y en un incremento de la resistencia contra patógenos severos de plantas, incluyendo hongos y bacterias (6).

Un ejemplo típico de *Trichoderma* activando los mecanismos de defensa de las plantas lo registraron Meyer *et al.* (38), quienes demostraron en cultivos de tomate, lechuga, frijol, tabaco y pimentón, que *T. harzianum* T39 aplicado al suelo, siete días antes de la inoculación foliar de *Botrytis cinerea*, redujo significativamente la severidad del moho gris, a pesar de no haberse detectado el antagonista en las hojas de los cinco cultivos evaluados. Yedidia *et al.* (58), en condiciones hidropónicas, demostraron la capacidad de *Trichoderma harzianum* T-203 de penetrar las raíces de plántulas de pepino y de incrementar la actividad de la peroxidasa y la quitinasa a las 48 y 72 horas, respectivamente. Este resultado se observó tanto en las raíces como en las hojas de las plantas tratadas, mostrando evidentemente que *T. harzianum* puede

inducir los mecanismos de defensa en plantas de pepino.

Vinale *et al.* (57), aislaron los principales metabolitos secundarios producidos por algunos aislamientos de *Trichoderma* (*T. harzianum* comercial cepa T22, T39, *T. atroviride* P1 y *T. harzianum* A6). Se extrajeron siete compuestos conocidos: T22 azaphilone, T39 butenolide, harzianopyrodine, harzianolide, 1-hydroxy-3-methyl-anthraquinone, 1,8-dithy-droxy-3-methyl-anthraquinone y 6 PP, con el fin de valorar sus efectos sobre el desarrollo de plantas de tomate y canola, y evaluar la inducción de los mecanismos de defensa de las plantas frente al ataque de los hongos patógenos *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* y *Gaeumannomyces graminis* var. tritici. Los diferentes metabolitos redujeron significativamente la severidad e incidencia de la enfermedad en las plantas y aumentaron el desarrollo y crecimiento de las mismas. Los resultados de este trabajo indican que algunos metabolitos secundarios de *Trichoderma* están directamente involucrados en la interacción *Trichoderma*-planta, y particularmente, el compuesto 6PP puede ser considerado como un compuesto que actúa como una auxina inductora. La identificación de nuevos

efectores moleculares puede soportar la idea de aplicar nuevos biopesticidas y biofertilizantes basados en metabolitos de *Trichoderma*, con el fin de usar microorganismos vivos como elicidores de los mecanismos de defensa y estimulantes del desarrollo de las plantas.

Shoresh *et al.* (53), mencionan la habilidad de *Trichoderma* spp. para controlar patógenos de plantas que atacan raíces, follaje y frutos, y algunos invertebrados como los nematodos. Este atributo, en parte, se debe a la capacidad de este hongo en reprogramar la expresión genética de la planta. Se han registrado muchas clases de compuestos que son liberados por *Trichoderma* spp. en la zona de interacción con la planta. La primera clase son proteínas con actividad enzimática u otras actividades. Proteínas como las celulasas y xylanasas, son secretadas por especies de *Trichoderma*, pero pareciera que sólo inducen una reacción localizada en la planta. Las endoquitinasas de *Trichoderma* también pueden aumentar las defensas, probablemente a través de la inducción de proteínas relacionadas con la defensa de las plantas. Otra clase de elicidores de la defensa de las plantas incluye oligosacáridos y compuestos

de bajo peso molecular, éstos son liberados por el hongo o por la pared celular de las plantas, debido a la actividad enzimática del hongo. Existen otros metabolitos secundarios producidos por diferentes especies de *Trichoderma*, los cuales inducen una expresión relacionada con la patogénesis, es así como se ha demostrado que al aplicar esta clase de proteínas en las plantas se reducen los síntomas de la enfermedad.

En plántulas de algodón, se observó al hongo *Trichoderma viride* induciendo la producción de fitoalexinas en el control de *Rhizoctonia solani*. Como un biocontrol clásico por resistencia inducida de la planta, se observó al controlar el patógeno *Pythium ultimum* en plántulas de *Arabidopsis* con el gen NPR1 de *T. harzianum* (T22), el cual es un gen clave involucrado en la resistencia a las enfermedades; este ejemplo, demuestra la importancia de la inducción de resistencia de las plantas por hongos controladores biológicos.

3. Facilitador de la solubilización y absorción de nutrientes. Para desarrollar su metabolismo *Trichoderma* spp. necesita de fuentes de carbono difícilmente biodegradables, como ligninas y celulosas. Por

ello, es capaz de movilizar nutrientes del suelo mediante excreción de enzimas extracelulares que transforman compuestos nitrogenados orgánicos en nitrógeno inorgánico, fundamentalmente amonio, y compuestos fosforados orgánicos en fósforo inorgánico, entre otros. Esta solubilización de nutrientes permite su utilización por las plantas, aumentando su salubridad y resistencia al ataque de patógenos (42). Altamore *et al.* (2), demostraron en condiciones *in vitro*, que *T. harzianum* Rifai T-22 tuvo la capacidad de solubilizar fosfatos y micronutrientes como cinc y manganeso, aspecto importante ya que convierte elementos insolubles a formas solubles, asimilables por las plantas. Harman (27), menciona que algunas cepas de *Trichoderma* pueden incrementar el uso eficiente del nitrógeno en las plantas. Específicamente, semillas tratadas con algunas especies de *Trichoderma* pueden reducir la necesidad del uso de fertilizante nitrogenado hasta en 33% aproximadamente, mejorando a su vez la producción de las plantas.

4. Biorremediador de suelos. *Trichoderma* spp. tiene la capacidad de degradar compuestos organoclorados, cloro fenoles, insecticidas como el DDT, endosulfán,

pentacloronitrobenceno y herbicidas como trifluralin y glifosato. Este hongo posee enzimas, que ayudan a la degradación inicial de material vegetal, y enzimas de mayor especialización que contribuyen a la simplificación de moléculas complejas, como pesticidas (42).

Los compuestos sintéticos organofosforados, los cuales son empleados como insecticidas, plastificantes y como armas químicas, se caracterizan por tener alta toxicidad hacia mamíferos, contaminando tanto ambientes acuáticos como terrestres. *Trichoderma harzianum* es capaz de utilizar el insecticida organofosforado clorpirifos como fuente de azufre y de fósforo, y de degradar glifosato y ácido aminometil fofórico (4).

Harman (26), afirma que *Trichoderma* spp. ha tenido un amplio uso para la remediación de la polución en suelos y aguas. Cepas de *Trichoderma harzianum* (T22) han sido altamente competitivas en la rizosfera de las plantas, aumentando el desarrollo de la raíz cuando la planta está con una alta acumulación de toxinas, incrementando también el volumen de suelo explorado por las raíces y la penetración profunda de éstas. Además,

Trichoderma spp. incrementa la toma de nitratos y otros iones. Por otra parte, *Trichoderma* spp. es altamente resistente a un rango de tóxicos; uno de los materiales tóxicos que resiste y cataboliza el hongo es el cianuro. *Trichoderma* constitutivamente produce las enzimas rodanasa y cianuro hidratasa, capaces de degradar el cianuro, permitiendo el normal desarrollo de las plantas.

5. En la industria. Diferentes especies del género *Trichoderma* producen eficientemente enzimas extracelulares que se emplean comercialmente para la producción de celulosas y otras enzimas que degradan polisacáridos complejos. Frecuentemente, son usadas en la industria textil y alimenticia para estos propósitos, por ejemplo, las celulosas se utilizan en el proceso de pre lavado de las telas de jean, para conferir con mayor facilidad la textura de desteñido. También forman parte de alimento para aves, con el fin de incrementar la digestión de las hemicelulosas de la cebada y otros cereales. En la industria panificadora se utiliza para potencializar el uso de las levaduras. *T. reseii* es el hongo más utilizado industrialmente, por su potencial para producir celulasa y hemicelulasa (42).

e. *Trichoderma* como endófito de plantas

Los hongos endófiticos viven en forma asintomática en las plantas, y son considerados mutualistas, porque reciben nutrición y protección del hospedero, mientras la planta aumenta su habilidad competitiva por la presencia de los microorganismos. La asociación endófito - planta es en gran parte desconocida por su complejidad, por lo tanto, se encuentra denominada algunas veces como parasitismo avirulento o simbiosis verdadera. Algunas de las actividades o efectos que tiene el endófito en la planta hospedera es el aumento de las defensas de la planta. Algunos pastos en interacción con un endófito poseen capacidades competitivas como el incremento en la tasa de germinación y resistencia a la sequía. La regulación del crecimiento y desarrollo es otro de los beneficios ofrecidos por estos hongos (29).

En el caso particular de *Trichoderma*, Yedidia et al. (59), demostraron la presencia de *T. harzianum* T-203 colonizando y penetrando las raíces de pepino, las cuales exhibieron una alta actividad de

quitinasas, β 1-3 glucanasa, celulasas y peroxidásas. Igualmente, Hoyos (29), encontró a *T. asperellum* T31 y *T. harzianum* T17 colonizando extra e intracelularmente raíces de fríjol.

f. *Trichoderma* en la biotecnología

Algunos genes del hongo *Trichoderma harzianum* han sido insertados en las plantas, para proporcionar a estas plantas transgénicas resistencia a enfermedades severas. En este sentido, Lorito et al. (36), trajeron el gen de *T. harzianum* que codifica para la enzima endoquitinasa en plantas de tabaco y tomate, mostrando en sus resultados un alto nivel de resistencia de las plantas de tabaco al ataque de *Alternaria alternata* y en las plantas de tomate al ataque de *Rhizoctonia solani*. Bolar et al. (7), emplearon genes de *T. harzianum* que codifican para la enzima endoquitinasa y los transfirieron a plantas de manzano Var. Marshall, con el fin de proporcionar a las plantas resistencia al ataque de *Agrobacterium tumefaciens*. En los resultados se observó una reducción del 99,7% del número de lesiones y 90,0% del área infectada en la hoja.

g. Limitaciones con el uso de *Trichoderma* en la agricultura

1. Eficacia. Ésta depende sensiblemente de los factores ambientales y de su nicho ecológico. Los factores físicos del suelo, tales como humedad, temperatura y pH, influyen en la actividad biorreguladora de *Trichoderma*. En semillas de algodón inoculadas con *T. hamatum* no se pudo controlar a *Rhizoctonia solani* (*Damping-off*) debido a las condiciones desfavorables de temperatura del suelo para el antagonista (18). Las distintas cepas de *Trichoderma* difieren del sitio del cual son aisladas. Hoyos (29), menciona que algunos aislamientos de *T. harzianum* muestran una gran variabilidad metabólica y morfológica, que puede explicar la amplia distribución en diversos hábitats de agregados de esta especie y su comportamiento en los distintos suelos donde se esté utilizando, ya que existe especificidad de cepas y modos de acción, además de niveles de adaptación a ambientes particulares.

2. Tiempo. Requiere de mayor tiempo para mostrar los resultados en el campo, debido a que en el manejo

de enfermedades la respuesta biológica difiere de la química; en el primer caso, se trabaja con un organismo vivo que afecta al organismo patogénico, dañando lentamente sus estructuras, lo cual hace que el manejo biológico sea catalogado como preventivo y no curativo. En el segundo caso, son sustancias químicas que actúan en forma curativa, alterando rápidamente funciones vitales de los organismos patógenos, como son los procesos fisiológicos relacionados con la división celular, la respiración y la formación y permeabilidad de las membranas.

3. Escaso conocimiento de su existencia y de su manejo. Los agricultores tradicionalmente han utilizado los productos químicos para el manejo de las enfermedades, con dificultades para cambiar su mentalidad a la hora de emplear los productos biológicos para la biorregulación de patógenos en las plantas.

4. Comercialización de productos artesanales y de mala calidad. En la producción y comercialización de *Trichoderma*, existen “industrias caseras” que no tienen personal especializado, ni tienen en cuenta todos los

requerimientos mínimos para obtener el registro ICA y de este modo comercializar el producto en el mercado. Esta es una gran dificultad, ya que estas empresas, sin registro, se encargan de dañar la imagen de un organismo que es eficaz en la biorregulación de microorganismos patógenos, entre otros.

5. Dinámica de los consorcios microbianos.

Esta dinámica es altamente variable y las condiciones de microclima y suelo son bastantes heterogéneas. Por lo tanto, la oportunidad de aplicación de tecnologías y de aprovechamiento de nichos productivos debe ser analizada para cada caso, debido a que la serie de particularidades de producción agrícola con las cuales hay que lidiar para hacer una agricultura limpia y productiva en el trópico, determina el éxito de esta labor. El desconocimiento de algunos de estos factores ha llevado a que se desvirtúe la biorregulación de patógenos con productos biológicos, además de las dudas de su eficacia en algunos sistemas de producción agrícola (30).

6. Interacciones ecológicas.

Desconocimiento de las interacciones ecológicas planta-suelo-biorregulador (30).

7. Transferencia. Programas de transferencia de tecnología sin la convicción de lo que transfieren, precarios o inexistentes, con un conocimiento muy limitado sobre consideraciones ecológicas, oportunidad y momento de aplicación, dosis, compatibilidad e inocuidad, entre otras características (30).

h. Formulaciones del hongo *Trichoderma*

En el mercado existen diferentes formulaciones de *Trichoderma* spp., cuya presentación es granular y en polvo mojable, a base de conidias y clamidosporas; y presentación líquida a base de blastosporas (reproducción vegetativa del hongo). Estas formulaciones son realizadas con aislamientos competitivos, que han pasado por ciertos requerimientos y requisitos exigidos por el ICA. Las pruebas preliminares realizadas al antagonista incluyen la evaluación de su viabilidad, patogenicidad, estabilidad, eficacia, persistencia, cepa y referencia. Además, debe disponer de una etiqueta autorizada con las dosis validadas.

i. Perspectivas del uso de *Trichoderma* spp. en la biorregulación de patógenos foliares

Algunos autores han demostrado la capacidad que tiene *Trichoderma* spp. para regular la población de hongos patógenos de la parte aérea de las plantas. Nelson y Powelson (41), evaluaron a *Trichoderma* spp. con el fin de estudiar su potencial para proteger el follaje de plantas de frijol contra el ataque de *Botrytis cinerea* causante del moho gris en este cultivo. Se obtuvo la reducción de la enfermedad en un 94%, cuando se inocularon las esporas de *T. hamatum* antes de la floración, o simultáneamente con las conidias de *B. cinerea*. Igualmente, O'Neill et al. (43), en plantas de tomate, demostraron que al inocular *T. harzianum* T39, disminuye la incidencia y severidad del moho gris causado por *Botrytis cinerea*. Después de diez días de la inoculación del antagonista, la incidencia de la enfermedad en el tallo de la planta se redujo entre el 62% y 84% y la severidad disminuyó entre el 68% y 71%. La intensidad de la esporulación por parte del hongo patógeno se redujo en 87%.

Lisboa (34), determinó la efectividad de una cepa nativa de *Trichoderma harzianum*, reduciendo significativamente la incidencia de la pudrición causada por *Botrytis cinerea* en racimos de uva, cuando fue inoculada en la floración y en el llenado del racimo.

Molina et al. (39), del filoplano (tallos y hojas) de plantas de *Eucalyptus globulus* y *Pinus radiata* en vivero, aislaron 144 cepas de hongos, de las cuales el 50% fueron probadas contra *Botrytis cinerea*. Se seleccionaron ocho cepas pertenecientes a los géneros *Clonostachys* y *Trichoderma*, las cuales presentaron los mayores efectos antagónicos sobre el hongo patógeno. En el ensayo realizado con *E. globulus* en vivero, la presencia de *Clonostachys* spp. y *Trichoderma* spp. en la superficie foliar de las plantas, confirma que ambos hongos son capaces de permanecer por un tiempo determinado y competir con otros microorganismos habitantes naturales del filoplano, atributo importante para la efectividad de antagonismo para el control de *B. cinerea*. La capacidad de los antagonistas de permanecer viables durante períodos secos, y colonizar el sustrato rápidamente, es característica de un antagonista adaptado al nicho de un tejido

necrótico. En este ensayo, las dos cepas de los hongos antagonistas, redujeron la incidencia del patógeno entre el 45% y 90%, superando la eficiencia del fungicida.

El manejo de enfermedades foliares también ha sido beneficiado con el uso de *Trichoderma* spp. (54). En condiciones de organopónico, la aplicación de *T. harzianum* (cepa A-34) a dosis de 10 kg/ha, mostró una eficacia de 42% contra la enfermedad del tizón de fuego del pepino, causada por el hongo *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt.), produciendo además un incremento en los rendimientos de producción del 50%. Otros autores citados por Stefanova (54), encontraron que aplicaciones foliares semanales de 20 L/ha de *T. harzianum* (cepa A-34), disminuye la incidencia de los mildius veloso (*Pseudoperonospora cubensis*) y polvoriento (*Erysiphe cichoracearum*) en el cultivo del pepino, en 35,0% y 23,2%, respectivamente, con un efecto colateral estimulante sobre las plantas, relativo al incremento de la longitud del tallo, el fruto y su peso promedio. En relación con la mancha púrpura de la cebolla (*Alternaria porri*), en las evaluaciones de campo, con cuatro aplicaciones de *T. harzianum*, a partir de los 40 días de la siembra, se

logró retardar y disminuir la infección de la enfermedad en las parcelas tratadas con el antagonista con respecto a las parcelas no tratadas.

Evidente et al. (21) encontraron dos nuevos metabolitos de *Trichoderma* con potencial contra áfidos. En ese estudio los metabolitos bioactivos Citrantifidiane y Citrantifidiol, aislados del hongo *T. citrinoviride*, mostraron actividad contra el áfido *Schizaphis graminum* (Rondani). En hojas de plantas de trigo, al aplicar los dos metabolitos, se observó una disminución de la presencia del áfido en las hojas tratadas. En promedio se encontraron 1.458 áfidos sobre las hojas tratadas con Citrantifidiane y 958 áfidos con Citrantifidiol, valores significativamente menores en comparación con los áfidos encontrados en las hojas no tratadas (2.896 áfidos).

j. Logros y recomendaciones con el uso de *Trichoderma* en el cultivo de café

Uso de *Trichoderma* en semilleros de café

Rincón et al. (46), evaluaron en semilleros de café, el efecto antagonístico de diferentes aislamientos de *Trichoderma* sobre el hongo patógeno *Rhizoctonia solani*. Los resultados mostraron en condiciones *in vitro* un micoparasitismo del antagonista sobre el patógeno, evidenciando lisis y vacuolización del micelio del hongo patógeno. En condiciones de invernadero, el aislamiento T-1644 fue el más efectivo en la regulación del hongo patógeno, mostrando que al incorporarlo en el suelo previamente infestado con *R. solani*, la enfermedad tuvo una reducción del 55,5%, en relación con el testigo.



Cupull *et al.* (17), demostraron que semillas de café inoculadas con *T. viride* y *T. harzianum* obtuvieron una germinación de 93% y 63%, respectivamente, en comparación con las semillas sin inoculación del antagonista, que presentaron el 38% de germinación a los 60 días de sembradas. En relación con el desarrollo de las plantas, aquellas inoculadas con *T. viride* presentaron un área foliar de 363 cm² y las tratadas con *T. harzianum* un área foliar de 339 cm², en comparación con las plantas testigo, que obtuvieron 204 cm², mostrando diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, tanto en la germinación como en el desarrollo de las plantas.

Castro y Rivillas (11), evaluaron la biorregulación de *Rhizoctonia solani*, empleando el antagonista *T. harzianum* (Tricho-D®). Se evidenció una incidencia de volcamiento de 18% en las semillas testigo (sin hongo antagonista), comparado con las semillas tratadas con tiabendazol (Mertect®) y *T. harzianum* que presentaron una incidencia del patógeno del 1,3% y 1,0%, respectivamente, a los 75 días de sembradas las semillas. En la Figura 3, se observan los fósforos de café, cuyas semillas fueron tratadas con *T. harzianum* y semillas que no recibieron ningún tratamiento. En

este mismo trabajo, se evaluó la persistencia de *T. harzianum* en la arena y a los 75 días se observó el crecimiento incontable de *T. harzianum* en las cajas petri pertenecientes al tratamiento donde se inoculó el antagonista (Figura 4), mientras que en las cajas petri que pertenecían al tratamiento donde se aplicó tiabendazol, se observó una variedad de hongos contaminantes, sin la presencia de un *Trichoderma* nativo (Figura 5).

Castro *et al.* (14), validaron el efecto antagonista de *T. harzianum* (Tricho-D®) sobre *R. solani*, en cinco sitios que diferían en sus condiciones climáticas y procedencia de la arena a utilizar en los germinadores. En todos los sitios evaluados, *T. harzianum* reguló el efecto del hongo patógeno, con incidencias del 5% en las semillas tratadas con el antagonista, comparado con el testigo absoluto que presentó una incidencia del 28%. En la Figura 6 se aprecian las chapolas de café provenientes de un semillero comercial de 74,25 m², tratado con *T. harzianum*. En este semillero, establecido en la Estación Experimental La Catalina (Risaralda), después de 80 días de sembradas las semillas, se obtuvo una germinación del 93% y un promedio de incidencia de damping off del 3%.

Guilcapi (23), evaluó el efecto de *Trichoderma harzianum* y *T. viride* en la producción de plantas de café variedad Caturra, en condiciones de germinador. *T. harzianum* fue el hongo que mostró los mayores beneficios en la producción de chapolas de café, con los niveles más bajos en la incidencia de damping off (10%) en comparación con los demás tratamientos y el testigo absoluto (51%). También registró el mayor porcentaje de germinación de la semilla de café, mayor longitud radicular, altura, diámetro del tallo, número de hojas y vigor de la planta. Con el hongo *T. viride* se obtuvo una incidencia de la enfermedad del 12%.

En la Tabla 1, se presentan las recomendaciones para la aplicación del hongo *Trichoderma harzianum* "Tricho-D®" en semilleros de café.

Uso de *Trichoderma* en el manejo de llaga negra

Esquivel *et al.* (20), evaluaron distintas cepas de *Trichoderma* al ataque de *Rosellinia bunodes* en chapolas de café. En el laboratorio todos los aislamientos del antagonista fueron excelentes competidores con el patógeno, debido a

su rápida tasa de desarrollo. Al microscopio se observó la degradación y lisis de las hifas del patógeno por parte de *Trichoderma* (Figura 7). En el invernadero, los resultados mostraron que tres de las cepas evaluadas, aisladas de suelo cafetero, presentaron alta eficiencia en la regulación de la enfermedad, reduciéndola en 69% (T-Y), 58% (T4) y 56% (T1) en comparación con el testigo.

Los mismos autores mencionan que la biorregulación de *R. bunodes* con la utilización del antagonista *Trichoderma*, tiene muchas posibilidades de aplicación en los sistemas de producción cafeteros, ya sea como un componente de los sistemas integrales de manejo de enfermedades o mediante el desarrollo de biopesticidas a base de este microorganismo.

En condiciones *in vitro*, Castro (9) seleccionó los mejores aislamientos de *T. koningii* y valoró su efecto sobre *R. bunodes* en chapolas de café, observando una biorregulación del 50% del hongo patógeno.

En cuanto a la materia orgánica de los suelos, Ruiz y Leguizamón (48) evaluaron el efecto del contenido de la materia orgánica en el suelo sobre el

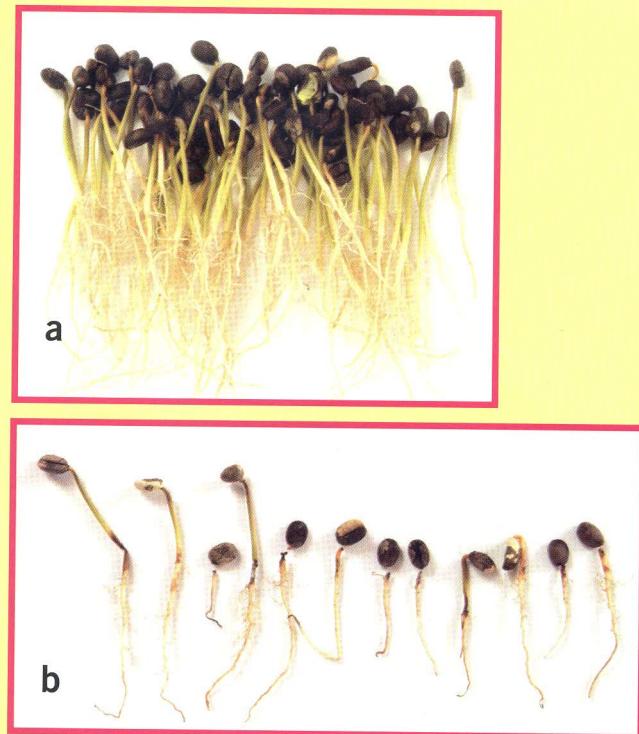


Figura 3. Fósforos de café, provenientes de semillas tratadas con *T. harzianum* (a) y sin tratar (b).



Figura 4. Crecimiento de *T. harzianum* (Tricho-D®). en el medio de cultivo PDA, 75 días después de su aplicación en la arena del semillero de café. Nótese la ausencia del hongo patógeno y de hongos contaminantes.

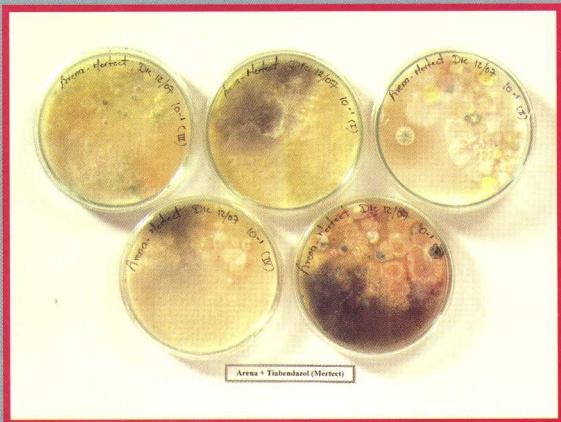


Figura 5. Aislamiento de organismos provenientes de arena tratada con tiabendazol (Mertect SC®). Después de 75 días de su aplicación, no se observó el crecimiento del hongo patógeno. Nótese la diversidad y crecimiento de hongos contaminantes en el medio de cultivo PDA.

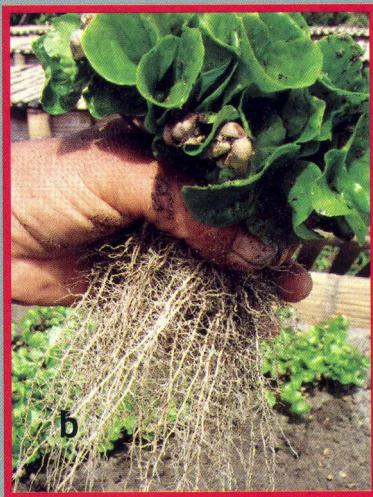
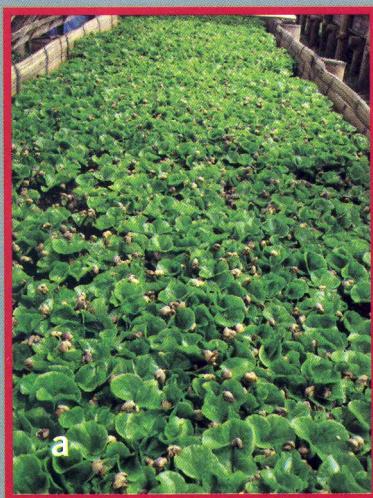


Figura 6. Chapolas de café provenientes de un semillero comercial tratado con *T. harzianum* (Estación Experimental La Catalina, Pereira, Risaralda). **a.** Crecimiento, desarrollo y sanidad de la parte aérea de las chapolas de café; **b.** Crecimiento y desarrollo sano de las raíces de las chapolas de café.

Tabla 1. Recomendaciones para la aplicación de *Trichoderma harzianum* en semilleros de café.

Aspecto considerado	Sistemas de aplicación
	<i>Trichoderma harzianum</i>
Riego de la arena	Una vez construido el germinador se realiza un riego sobre la arena con el fin de uniformizar su humedad
Concentración del producto	10 g de producto comercial por 1 L de agua
Volumen de aplicación	1 L de la mezcla por 1 m ² de germinador
	El producto se aplica sobre el sustrato seis días antes de sembrar las semillas (4.000 semillas por 1 ó 1,5 m ² de germinador)
Tratamiento del sustrato y siembra de la semilla	Después de seis días de aplicar el producto, se recoge 1 cm de la capa superior de la arena tratada, se distribuye la semilla en forma uniforme sobre ésta y con la arena recogida se cubren las semillas, con el uso de una zaranda, para que quede homogénea la capa de arena sobre las semillas
Cubrimiento del germinador con los costales de fique	Se colocan costales sobre la arena y sobre las latas de guadua
Riego del germinador	Se debe realizar sobre los costales que cubren la tapa de éste. Esta labor debe hacerse con cierta periodicidad (según las condiciones de temperatura) con regadera o manguera con flujo regulado, con el fin de mantener una adecuada humedad del sustrato. En esta labor se debe evitar el exceso de agua y destapar las semillas
Remoción de los costales	A los 40 y 65 días, los costales se retiran de la arena y de las latas de guadua, respectivamente



Figura 7. Lisis de las hifas de *Rosellinia bunodes* por la acción del antagonista *Trichoderma* (20).

crecimiento de dos cepas de *Trichoderma* y la influencia de este hongo en el control de *Rosellinia bunodes*. Se determinó que al interactuar el patógeno y el antagonista durante 15 días en el suelo, se obtuvieron menores porcentajes de infección en las chapolas sembradas en suelos con 3,5% y 6,2% de materia orgánica, entre los cuales no hubo diferencias estadísticas significativas, pero sí entre éstos y el

suelo con materia orgánica de 8,9%, que presentó los porcentajes más altos de infección. Entre cepas del antagonista se apreciaron diferencias estadísticas, con un menor porcentaje de infección con la cepa aislada de suelos infectados por *R. bunodes*. *Trichoderma* es un hongo que tiene la capacidad de crecer y desarrollarse en diferentes tipos de suelos, lo cual puede ser útil para el manejo de *R. bunodes* en suelos que presenten altos contenidos de materia orgánica, biorregulando la población del patógeno y estimulando condiciones propicias para el crecimiento de las plantas.

Valencia y Castro (56), valoraron *in vitro* algunos aspectos biológicos del hongo *Trichoderma* tales como la tasa de crecimiento diametral, la esporulación y la germinación bajo diferentes condiciones de temperatura, luz y pH. Determinaron que el mayor crecimiento diametral de los aislamientos de *Trichoderma* sp., se obtuvieron a 26°C con 0, 8 y 12 horas de luz, a los ocho días de sembrado el hongo. Los aislamientos T-10 (aislamiento de árboles de café afectados por *R. bunodes* en Palestina-Caldas), T-Rb (aislamiento de árboles de café afectados por *R. bunodes*) y T-Nim (aislamiento de árboles de Neem *Azadirachta indica*,

afectados por llaga negra) produjeron 10,6; 14,7 y $48,3 \times 10^7$ esporas/caja petri, respectivamente. Se obtuvo una germinación de 92%, 76% y 80% a 26°C, respectivamente, con ocho horas de luz y 16 horas de oscuridad. No hubo diferencias significativas entre los valores de pH correspondientes a 4, 5 y 6 y las concentraciones de inóculo (1×10^6 y 1×10^8 esporas/ml por gramo de arroz). En condiciones de invernadero, las chapolas de café inoculadas con *R. bunodes* presentaron una infección entre 20% y 28%, cuando fueron tratadas con los distintos aislamientos de *Trichoderma*, en comparación con el testigo de referencia que presentó una infección del 64%.

En suelos de la zona cafetera Colombiana, Castro (12) evaluó la interacción de *T. harzianum* (Tricho-D®) con *R. bunodes* en la rizosfera de café de dos suelos contrastantes en sus características físico - químicas. En el suelo de la Unidad Guamal - Inceptisol (1,2% de materia orgánica), la incidencia de llaga negra fue de 10% en el testigo referente (inoculación del patógeno) y en las plantas tratadas con *T. harzianum* fue de 5%, mientras que en el suelo de la Unidad Chinchiná – Andisol (8,5% de materia orgánica), la

incidencia de llaga negra fue de 65% en el testigo referente (inoculación del patógeno) y en las plantas tratadas con *T. harzianum* fue de 35%, mostrando un efecto antagónico sobre el hongo patógeno (Figura 8). La persistencia de *T. harzianum* en el suelo, evidenció la presencia del hongo antagonista con crecimiento incontable a los 30, 60 y 180 días después de establecido el experimento, tanto en el suelo de la Unidad Chinchiná como en el suelo de la Unidad Guamal (Figura 9). Con este trabajo se evidenció la capacidad de *Trichoderma* para establecerse y ofrecer beneficios en suelos de condiciones contrastantes y limitantes para el crecimiento y desarrollo de plantas de café y para el establecimiento de otros microorganismos.

Para la recuperación de sitios afectados por la llaga negra, Gutiérrez *et al.* (24) recomiendan retirar las plantas de café afectadas por *R. bunodes*, así como los residuos vegetales de raíces y otros órganos, que le permitan a este hongo sobrevivir como patógeno o como saprófito. Así mismo, al momento de realizar la siembra de las plantas nuevas, se recomienda que provengan asociadas con una micorriza como *Glomus manihotis*, y que se

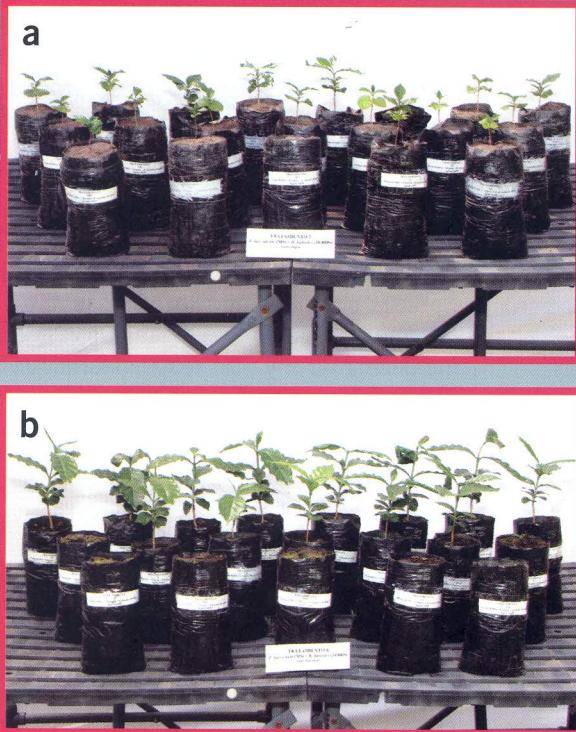


Figura 8. Plantas de café de seis meses de edad, inoculadas con *T. harzianum* (momento siembra) y *R. bunodes* (30 días después del antagonista). **a.** Suelo Unidad Guamal; **b.** Suelo Unidad Chinchiná.

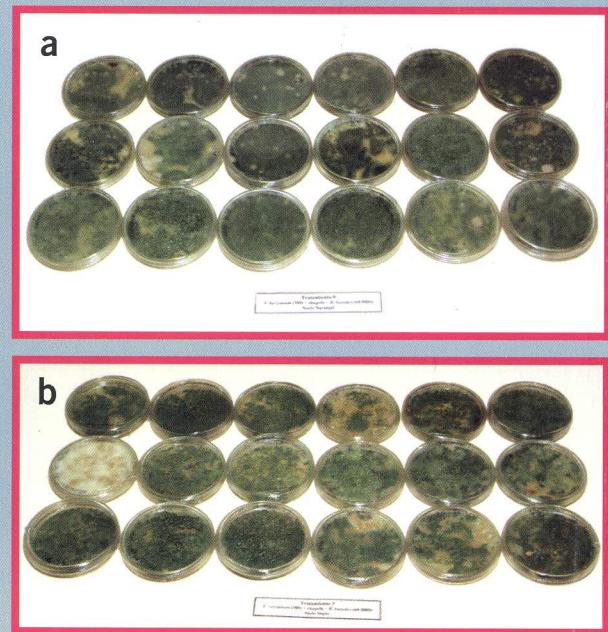


Figura 9. Aislamiento y crecimiento de *Trichoderma harzianum* (diluciones 10^{-1} y 10^{-3}), seis meses después de establecido en suelos de la Unidad Chinchiná (**a**) y de la Unidad Guamal (**b**).

incorpore al hoyo de siembra el antagonista *Trichoderma koningii* (50 g/hoyo) (Figura 10). La evaluación realizada en la rizosfera, ocho meses después de la siembra de las nuevas plantas, evidenció el crecimiento de *Trichoderma*, mostrando que el hongo antagonista persiste y hace parte de la nueva biota, especialmente en suelos con buenos contenidos de materia orgánica. El seguimiento efectuado a las plantas durante 30 meses a partir de la siembra, no mostró síntomas que indicaran la presencia del patógeno en alguna de las plantas.

Con base en los resultados de Castro (12), se considera que estas dos especies de *Trichoderma* pueden ser tenidas en cuenta en programas de biorregulación de *R. bunodes* y de reducción de esta enfermedad en plantaciones de café. Con base en la capacidad de establecimiento y reproducción de *T. harzianum*, se considera viable utilizar la dosis de 10 g/L de este hongo, empleando un volumen de 40 mL/hoyo, para suplir la aplicación de 50 g de *T. koningii* en el orificio de siembra. Esta modificación en la aplicación del agente biológico es viable si no se reduce sustancialmente la cantidad de propágulos del ingrediente activo, y se recomienda con el fin de reducir el costo de la aplicación de este producto en forma de polvo.

Uso de *Trichoderma* en el manejo de llaga macana

Castro y Rivillas (10), recomiendan aplicar *T. harzianum* (Tricho-D®) en zocas de café, empleando un aplicador de contacto (realizar tres pases sobre la zoca). El producto biológico se aplica al corte inmediatamente después de realizado el zoqueo, en una concentración de 10 g/L de agua, empleando un volumen de 0,17 mL/tocón.

Castro y Rivillas (10), muestran los resultados obtenidos en el trabajo que se realizó en el campo, con el fin de evaluar el efecto de *T. harzianum* sobre *Ceratocystis fimbriata* en zocas de café. Seis meses después de establecido el experimento, las zocas en el testigo absoluto presentaron 44% de incidencia de llaga macana, mientras que las zocas inoculadas con el patógeno presentaron 83%. Las zocas tratadas con carbendazim (Derosal®) y *T. harzianum* (Tricho-D®) presentaron una incidencia de 9 y 7%, respectivamente. La Figura 11, muestra zocas tratadas con *T. harzianum* (a), sin tratar (b) e inoculada con *C. fimbriata* (c).

Trichoderma como antagonista de patógenos de ramas, hojas y frutos de café

Alvañil (3), evaluó diez aislamientos de *Trichoderma* sobre el patógeno *Erythricium salmonicolor*. Los aislamientos T2 y T9 (*T. harzianum*), T6 (*T. aureoviride*) y T12



Figura 10. Aplicación del hongo antagonista *Trichoderma koningii* al hoyo de siembra. (24).

(*T. hamatum*), mostraron un efecto de micoparasitismo, al detener el crecimiento del patógeno y crecer sobre el mismo.

Posteriormente, Castro (13), evaluó el antagonismo *in vitro* de *T. harzianum* (Tricho-D®) sobre los hongos patógenos *Colletotrichum* spp. (mancha mantecosa), *Erythricium salmonicolor* (mal rosado), *Omphalia flava* (gotera u ojo de gallo) y *Phoma* spp. (muerte descendente). Sobre todos los hongos se observó un micoparasitismo de *T. harzianum*, con un detenimiento del crecimiento de los hongos patógenos, a los 8 días (Figura 12), y el crecimiento del antagonista sobre todos los hongos patógenos, a los 20 días (Figura 13).

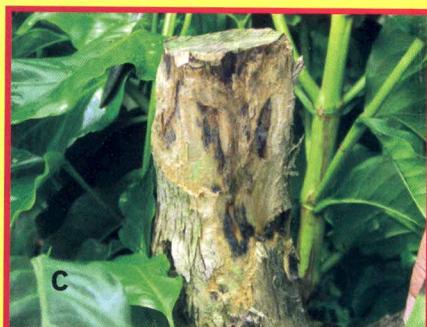
En el cultivo de café en Colombia, no se dispone de información experimental que permita la recomendación del hongo *Trichoderma* spp. para la biorregulación de algunos patógenos de hojas, ramas o frutos de plantas de café. Sin embargo, se tendrá en cuenta el uso de *Trichoderma* spp. empleando cepas aisladas de estos órganos o aislamientos comerciales reconocidos por su adaptabilidad a condiciones extremas de luz, temperatura y humedad, entre otros, para tratar de prevenir o reducir el ataque de patógenos aéreos de plantas de café. Se conocen resultados importantes en Centro América, donde han empleado *Trichoderma harzianum* en la reducción de lesiones en las hojas con gemas (cabecitas) del hongo *Omphalia flava*. También se reportó un mayor establecimiento del antagonista cuando se aplicó el micelio del hongo en lugar de esporas. Con un mayor conocimiento de la epidemiología de hongos como *Erythricium salmonicolor* y *Phoma* spp. es probable que algunos aislamientos de *Trichoderma* spp. puedan ser eficientes, limitando el crecimiento y desarrollo de estos patógenos a través de programas preventivos.



a



b



c

Figura 11. a. Zoca de café totalmente sana, seis meses después de inoculada con *T. harzianum* (Tricho-D®); b. Zoca de café afectada, seis meses después de realizado el zoqueo, sin ningún tratamiento; c. Zoca de café afectada, seis meses después de realizado el zoqueo, inoculada con *Ceratocystis fimbriata*.

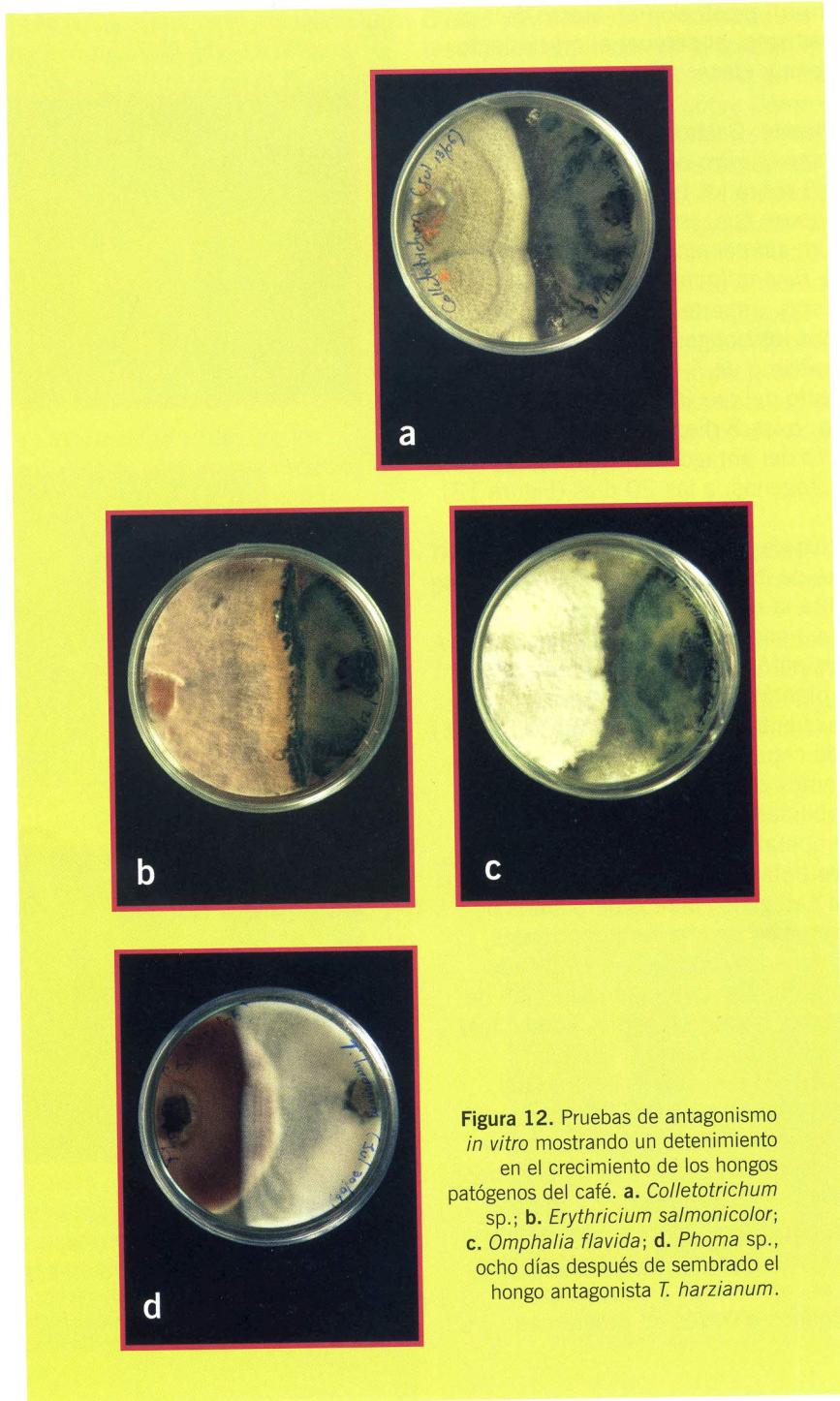


Figura 12. Pruebas de antagonismo *in vitro* mostrando un detenimiento en el crecimiento de los hongos patógenos del café. a. *Colletotrichum* sp.; b. *Erythricium salmonicolor*; c. *Omphalia flava*; d. *Phoma* sp., ocho días después de sembrado el hongo antagonista *T. harzianum*.

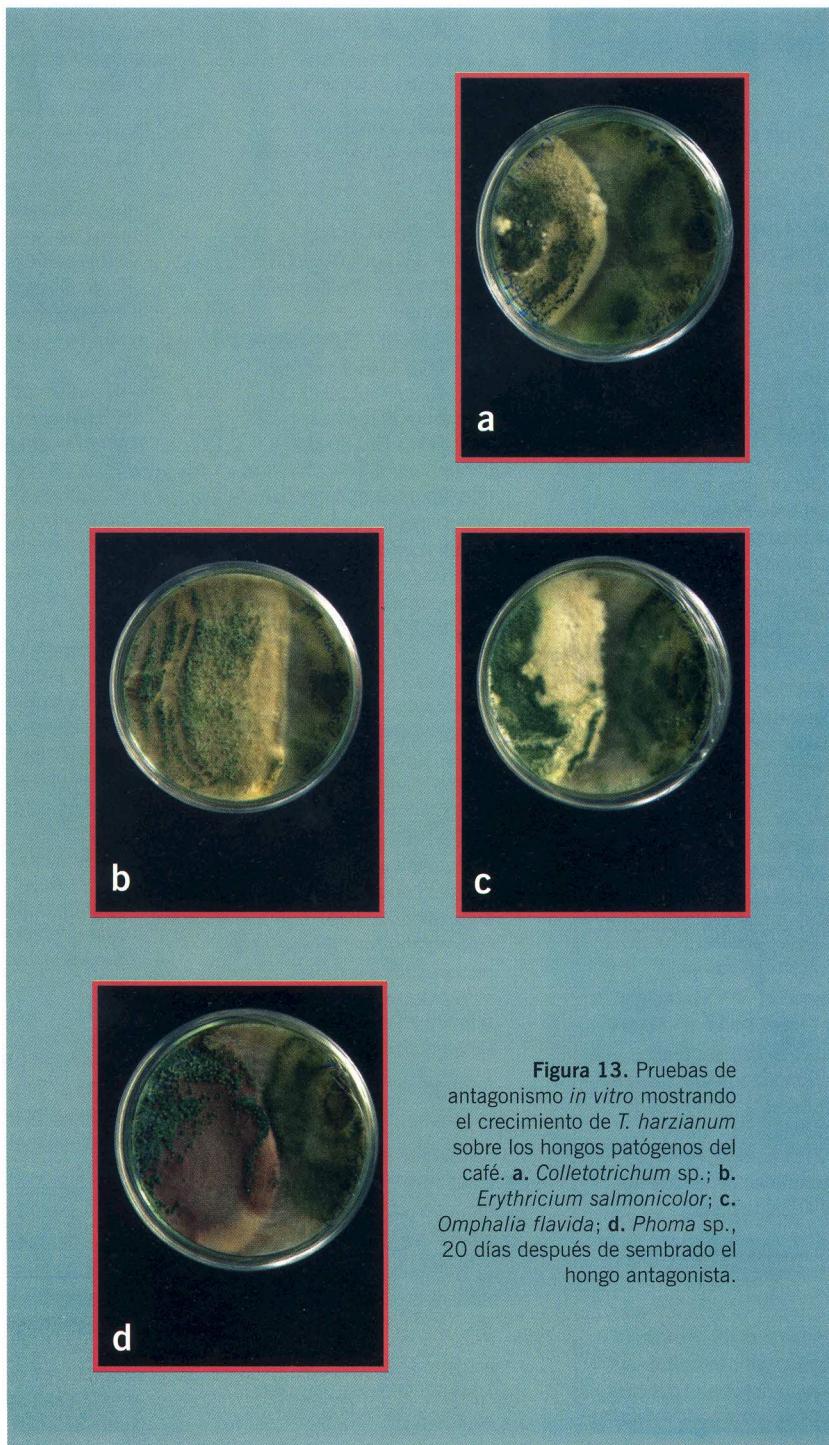


Figura 13. Pruebas de antagonismo *in vitro* mostrando el crecimiento de *T. harzianum* sobre los hongos patógenos del café. **a.** *Colletotrichum* sp.; **b.** *Erythricium salmonicolor*; **c.** *Omphalia flavidia*; **d.** *Phoma* sp., 20 días después de sembrado el hongo antagonista.

Literatura citada

- AFFOKPON A.; COINÉ L. D.; HTAY CH CH.; AGBÉDÉ D. R. Biocontrol potential of native *Trichoderma* isolates against root-knotnematodes in West African vegetable production systems. *Soil Biology & Biochemistry* 43: 600-608. 2011.
- ALTAMORE C.; NORVELL W.A.; BJORKMAN T.; HARMAN G.E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the Plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and environmental Microbiology* 65 (7): 2926-2933. 1999.
- ALVAÑIL A., A. El mal rosado del cafeto; estudio de algunos aspectos básicos sobre la biología y el control biológico del hongo *Corticium salmonicolor* Berk. y Br. Bogotá (Colombia), Universidad Nacional. Facultad de Agronomía (Tesis: Ingeniero Agrónomo). 112 p. 1994.
- ARGUMEDO D. R.; ALARCÓN A.; FERRERA C. R.; PEÑA C. J.J. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con los contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 25(4):1-15. 2009.
- ANKE H.; KINN J.; BERGQUIST K.E.; STERNER O. Production of siderophores by strains of the genus *Trichoderma*. Isolation and characterisation of the new lipophilic coprogen derivative palmitoyl coprogen. *Biometals* 4 (3): 157-165. 1991.
- BENÍTEZ T.; RINCÓN A. M.; LIMÓN M. C.; CODÓN A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology* 7(4) 16 p. 2004.
- BOLAR J.P.; NORELLI J.L.; WONG K.; HAYES C.K. Expression of Endochitinase from *Trichoderma harzianum* in transgenic Apple Increases resistance to apple scab and reduces vigor. *Phytopathology* 90 (1-6): 72-78. 2000.
- BURBANO O. H. El Suelo: Una visión sobre sus componentes biorgánicos. Pasto: Universidad de Nariño, 1989. 447 p.
- CASTRO C., B.L. Antagonismo de algunos aislamientos de *Trichoderma koningii*, originarios de suelo colombiano contra *Rosellinia bunodes*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Pythium ultimum*. Fitopatología Colombiana (Colombia) 19(2): 7-17. 1995.
- CASTRO T. A.M.; RIVILLAS O., C.A. Manejo sostenible de la Llaga macana en cafetales renovados por zoca. Avances Técnicos Cenicafé N° 312: 1-8. 2003.
- Biorregulación de *Rhizoctonia solani* en germinadores de café. Avances Técnicos Cenicafé N° 336: 1-8. 2005.
- CASTRO T. A.M. Interacción de *Trichoderma harzianum* con *Rosellinia bunodes* en la rizosfera de café. Informe Anual de Actividades Octubre 2005 – Septiembre 2006. Disciplina de Fitopatología. Cenicafé. p 1-8.
- Antagonismo "in vitro" de *Trichoderma harzianum* sobre hongos patógenos de café. Informe Anual de Actividades Octubre 2005 – Septiembre 2006. Disciplina de Fitopatología. Cenicafé. p 1-10.
- CASTRO T. A.M.; RIVILLAS O., C.A.; SERNA G. C.A.; MEJÍA M, C.G Germinadores de café: Construcción, manejo de *Rhizoctonia solani* y costos. Avances Técnicos Cenicafé N° 368: 1-12. 2008.
- CHANG Y.; CHANG Y.CH.; BAKER R. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease* 70:145-148. 1986.
- CHET I.; INBAR J. Biological control of fungal pathogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 48(1): 37-43. 1994.
- CUPULL S. R.; ANDREU R., C.M.; DELGADO P. Y. Efecto de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* como estimulantes de la germinación y el desarrollo de posturas de *Coffea arabica* L. *Café Cacao* 3 (3): 67- 68. 2002.

18. DEVI M.; PAUL Y.S. Influence of soil factors on population dynamics of bioagent – *Trichoderma harzianum*. Indian Phytopathology 61 (1): 87 – 89. 2008.
19. ELAD Y.; CHET F.; HENIS Y. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. Canadian Journal of Microbiology 28: 719-725. 1982.
20. ESQUIVEL R., V.H.; LEGUIZAMÓN C., J.E.; ARBELÁEZ T., G. Búsqueda y evaluación de antagonistas a *Rosellinia bunodes* agente causante de la llaga negra del cafeto. Cenicafé 43(2): 33-42. 1992.
21. EVIDENTE A.; RICCIARDIELLO G.; ANDOLFI A.; SABATINI M.A.; GANASSI S.; ALTOMARE C.; FAVILLA M.; MELCK C. Citrantifidiene and Citrantifidol: Bioactive metabolites produced by *Trichoderma citrinoviride* with potential antifeedant activity toward aphids. Journal of Agricultural and food chemistry 56 (10): 3569-3573. 2008.
22. GONZÁLEZ R, M.; CASTELLANOS G, L.; RAMOS F, M.; PÉREZ G, G. Efectividad de *Trichoderma* spp para el control de hongos patógenos de la semilla y el suelo en el cultivo del frijol. Fitosanidad 9(1). 37-41. 2005.
23. GUILCAPI P, E.D. Efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, en la producción de plantas de café (*Coffea arabica*) Variedad Caturra a nivel de vivero. Trabajo de Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador. 95 p. 2009.
24. GUTIÉRREZ G., R.A.; CASTRO C., B.L.; RIVILLAS O., C. Manejo de la Llaga negra del cafeto. Cenicafé 57 (4): 299-311. 2006.
25. HARMAN G.E. Myths and Dogmas of Biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease 84 (1-6): 377-391. 2000.
26. -----, Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 96 (2): 190-194. 2006.
27. -----, Plant disease biocontrol agents: Their mechanisms and abilities to alleviate biotic and abiotic plant stresses and improve plant fertilizer use efficiency. XXIX Congreso Nacional de Fitopatología y Ciencias afines. Conferencia Magistral. p 26. Medellín, junio 2009.
28. HOOG G.S. Atlas of clinical fungi, ed. 2: 1-1126. 2000.
29. HOYOS C, L.M. Diversidad de aislamientos neotropicales de *Trichoderma* spp y su potencial en estimulación de crecimiento de frijol *Phaseolus vulgaris* L. Tesis de grado para optar el grado de doctorado en Biología. Medellín, Universidad de Antioquia. 120p. 2007.
30. -----, Manejo biológico de las enfermedades de plantas: Entre el debate y la expectativa. XXIX Congreso Nacional de Fitopatología y Ciencias afines. Conferencia Magistral. p 32 - 36. Medellín, junio 2009.
31. HOWEL C.R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease 8 (7): 4-10. 2003.
32. INFANTE D.; MARTÍNEZ B.; GONZÁLEZ N.; REYES Y. Artículo Reseña: Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Revista de Protección Vegetal 24 (1): 14-21. 2009.
33. KUNDU A.; CHAKRABORTY M. R.; CHATTERJEE N. C. Biocontrol of wood decay by *Trichoderma* spp – Retrospect and prospect. Asian Journal of Experimental Science 22 (3): 373-384. 2008.
34. LISBOA M. M.A. Efectividad de *Bacillus subtilis* y de una cepa nativa de *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia y la severidad de pudrición gris (*Botrytis cinerea*) en *Vid Vinífera*. Tesis de grado para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía. Talca-Chile. 49 p. 2003.
35. LÓPEZ M. R.; ROS M.; PASCUAL J. A. Mycoparasitism-related genes expression of *Trichoderma harzianum* isolates to evaluate their efficacy as biological control agent. Biological Control 56: 59-66. 2011.

36. LORITO M.; WOOD S.L.; GARCÍA F. I.; COLUCCI G.; HARMAN G.E.; PINTOR-TORO J.A.; FILIPPONE E.; MUCCIFLORA S.; LAWRENCE C.B.; ZOINA A.; TUZUN S.; SCALA F. Genes from mycoparasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:7860-7865. 1998.
37. MARTÍNEZ M. A.; ROLDÁN A.; PASCUAL J.A. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* under conventional and low input fertilization field condition in melon crops: Growth response and *Fusarium* wilt biocontrol. Applied Soil Ecology 47: 98-105. 2011.
38. MEYER G.; BIGIRIMANA J.; ELAD Y.; HOFTE M. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. European Journal of plant pathology 104 (3): 279-286. 1998.
39. MOLINA M. G.; ZALDÚA F. S.; GONZÁLEZ V.G.; SANFUENTES V.S. E. Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile. Bosque 27 (2): 126-134. 2006.
40. MUIÑO B.L.; BOTTA E.; PÉREZ E.; MORENO D.; FERNÁNDEZ E. Uso de *Trichoderma* como alternativa al bromuro de metilo en los cultivos protegidos, flores y ornamentales en Cuba. In: Taller Latinoamericano.
41. NELSON M. E.; POWELSON M. L. Biological control of Grey mold of snap beans by *Trichoderma hamatum*. Plant Disease 72 (8): 727-729. 1988.
42. NORTE A. "Trichoderma". Revista digital SpainBonsai.com. Especial Pino Silvestre N° 1. 2007.
43. O' NEILL T. M.; NIV A.; ELAD Y.; SHTIENBERG D. Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato stem wounds with *Trichoderma harzianum*. European Journal of Plant Pathology 102 (7): 635-643. 1996.
44. PÉREZ V.L.; BATLLE A.; FONSECA J.; MONTENEGRO V. Eficacia de *Trichoderma harzianum* en el control de *Fusarium oxysporum* F. Sp. Cubense en Cuba. In: Taller Latinoamericano. Biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* y otros antagonistas. Memorias. Cuba, INISAV. Marzo 28-31 2006. p 31-32.
45. POCASANGRE L. E.; DONALDO M. R.; ZUM F. A.; RIVEROS A.S.; ROSALES F. E.; SIKORA R. A. Hongos endofíticos como agentes biológicos de control de fitonematodos en banano. XVII Reuniao Internacional de Associaçao para a Cooperaçãoas Pesquisas sobre banano no Caribe na América Tropical. 15 a 20 de Outubro de 2006.
46. RINCÓN G., A.A; LEGUIZAMÓN C., J.E.; ARBELÁEZ T., G. Control biológico de *Rhizoctonia solani* con *Trichoderma* spp. en semilleros de café. Cenicafé (Colombia) 43(3): 73-83. 1992.
47. ROJAN P. J.; TYAGY R. D.; PRÉVOST D.; SATINDER K. B.; POULEUR S.; SURAMPALLI R. Y. Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. azuki and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. Crop Protection 29: 1452-1459. 2010.
48. RUIZ S. L.; LEGUIZAMÓN C. J. Efecto del contenido de materia orgánica del suelo sobre el control de *Rosellinia bunodes* con *Trichoderma* spp. Cenicafé 47 (4): 179-186. 1996.
49. SAHEBANI N.; HADAVI N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Soil Biology & Biochemistry 40 (8): 2008-2016. 2008.
50. SAMUELS G.J. *Trichoderma*: a review of biology and systematic of the genus. Mycological Research 100: (7-12). 1996.
51. -----, *Trichoderma*: Systematic, the sexual state, and ecology. Phytopathology 96 (2): 195-206. 2006.
52. SERRANO C. L.; GALINDO F. E. Control biológico de Joinville – Santa Catarina – Brasil.

- organismos fitopatógenos: Un reto multidisciplinario. Revista Ciencia de la Academia Mexicana de Ciencias. 14 p. 2007.
53. SHORESH M.; HARMAN G.E.; MASTOURI F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual Review of Phytopathology 48: 21-43. 2010.
54. STEFANOVA N, M. Introducción y eficacia técnica del biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* spp en cuba. Fitosanidad 11 (3):75-79. 2007.
55. TRUJILLO A.M.; FIGUEROA H.M.; CORBEA S.O.; ELÍAS R.; ÁVILA N.; ALMEIDA M. Posibilidades del antagonista de *Trichoderma harzianum* (RIFAI) para el manejo del Tizón temprano (*Alternaria solani* SOR.) en el cultivo de la papa. In: Taller Latinoamericano. Biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* y otros antagonistas. Memorias. Cuba, INISAV. Marzo 28-31 2006. p 33-34.
56. VALENCIA A. J.C.; CASTRO C. B.L. Aspectos biológicos de aislamientos de *Trichoderma* sp. antagonistas a *Rosellinia bunodes*. Cenicafé 55 (1): 16-28. 2004.
57. VINALE F.; SIVASITHAMPARAM K.; GHISALBERTI E.L.; MARRA R.; BARBETTI M.J.; LI H.; WOO S.L.; LORITO M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. Physiological and Molecular Plant Pathology 72 (1-3): 80-86. 2008.
58. YEDIDIA I.; BENHAMOU N.; CHET I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology 65 (3). 1061-1070. 1999.
59. YEDIDIA I.; BENHAMOU N.; KAPULNIK Y.; CHET I.
- Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. Plant Physiology and Biochemistry 38 (11): 863-873. 2000.
60. YEDIDIA I.; SRIVASTVA A.K.; KAPULNIK Y.; CHET I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant and soil 235 (2): 235-242. 2001.



Cenicafé

Ciencia, tecnología
e innovación
para la caficultura
colombiana