

COMPORTAMIENTO DE SEIS CEPAS DE HONGOS ANTAGONISTAS DE *ALTERNARIA* *SOLANI* EN CONDICIONES CONTROLADAS DE INOCULACIÓN

Leticia Vivas Vivas
Mariuxi Molina Yaure



**Investigación
Tecnología e Innovación**

Revista de divulgación de la Dirección de Investigaciones y Proyectos Académicos



COMPORTAMIENTO DE SEIS CEPAS DE HONGOS ANTAGONISTAS DE *ALTERNARIA SOLANI* EN CONDICIONES CONTROLADAS DE INOCULACIÓN

BEHAVIOR OF SIX ANTAGONISTIC FUNGUS *ALTERNARIA SOLANI* IN CONTROLLED CONDITIONS OF INOCULATION

Leticia Vivas¹, Mariuxi Molina²

RESUMEN

El cultivo de tomate es afectado por *Alternaria solani*, el manejo convencional es mediante fungicidas, la tendencia actual es reducir el uso de agroquímicos y buscar alternativas eficaces. El objetivo fue evaluar seis cepas de hongos antagonistas en condiciones controladas de infección. Las cepas de hongos antagonistas fueron *Trichoderma asperellum*, *Hypocrea lixi* y dos no identificadas. En laboratorio se evaluaron tres dosis 1×10^6 , 1×10^8 y 1×10^{10} conidios/ml de cada cepa sobre la germinación de esporas de *A. solani*; en invernadero las plántulas de tomate cultivar Floradade previamente se inocularon con *A. solani* y se asperjaron con 1×10^{10} conidios/ml. Se suministró humedad por dos horas en la mañana y en la tarde con un humidificador. Se evaluó semanalmente en base a la escala de Horsfall-Barratt modificada por Large (1996), de 0 a 9 donde: 0 = planta sana y 9 = planta muerta. En laboratorio se utilizó un DCA en arreglo factorial + 2 y en invernadero solo DCA, ambos con cinco unidades experimentales, la comparación de medias con la prueba de Duncan $p=0,05$. Se registró temperatura y humedad relativa. Las cepas Pedro Carbo y EELS tuvieron los menores porcentajes de folíolos infectados; la temperatura favorable para el desarrollo de la enfermedad fue 24 a 26 °C y la humedad relativa 60%.

Palabras claves

Antagonista, *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *Hypocrea lixi*

1 Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Agrarias, Ciudadela Universitaria "Salvador Allende" Av. Kennedy y Av. Delta, Guayaquil-Ecuador. Telf.: 2288040, e-mail: leticiavivas@hotmail.com.

2 Becaria, Telf.:080310856, e-mail: mariuxi.molina.y@hotmail.com

SUMMARY

The cultivation of tomato is affected by *Alternaria solani* conventional management is using fungicides, the current trend is to reduce the use of agrochemicals and find effective alternatives. The objective was to assess six strains of antagonistic fungi in controlled conditions of infection. Strains of antagonistic fungi were *Trichoderma asperellum*, *Hypocrea lixi* and two unidentified. Laboratory were evaluated in three doses 1 x, 1 x 106108 and 1 x 1010 conidia/ml of each strain on the germination of spores of a. *solani*; in greenhouse tomato seedlings cultivated Floradade previously of inoculated with a. *solani* and asperjaron with 1 x 1010 conidia/ml, provided moisture for two hours in the morning and afternoon with a humidifier. Was evaluation every week based on the modified Large (1996), Horsfall-Barratt scale from 0 to 9 where: 0 = plant healthy and 9 = dead plant. Laboratory used a DCA agreement + 2 factorial and greenhouse only DCA, both with five experimental units, the comparison of means with Duncan test $p = 0, 05$. Saw temperature and relative humidity. Pedro Carbo and EELS strains had the lowest percentages of infected leaflets; the temperature favourable for the development of the disease was 24-26 °C and relative humidity 60%.

Keywords

Antagonist, *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *Hypocrea lixi*

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en Ecuador según datos estadísticos del MAGAP/SIGAGRO (2011) reportan que la superficie sembrada con tomate en el 2010 fue 2037 ha con producción de 43025 Tm. Este cultivo es afectado por varios fitopatógenos de suelo y foliares que provocan pérdidas en su rendimiento y el consiguiente aumento en los costos de producción por efectos de control, pues, en la provincia de Manabí los productores invierten alrededor del 50% del costo de inversión en labores de combate de plagas, con promedios de 23 aplicaciones durante el ciclo de producción (Carvajal, 1997). Por otra parte, se ha observado que la realizan aspersiones con productos extremadamente y altamente tóxicos hasta 24 horas antes de cosechar y en ciertos casos inclusive durante la misma, lo que conlleva al aumento del costo de producción, afecciones en la salud de personas que laboran en campo y de los consumidores, deterioro del agroecosistema. En la naturaleza existen microorganismos que reducen en forma natural el inóculo de fitopatógenos como es el caso de hongos y bacterias antagonistas.



El tizón temprano causado por *Alternaria solani* es una enfermedad muy destructiva en áreas donde existe alta humedad; afecta al follaje, tallos y frutos, puede causar daños severos al cultivo en cualquier etapa del desarrollo. Los síntomas iniciales son pequeñas lesiones de color negro parduzco que aparece en hojas más viejas, el tejido que rodea la lesión toma un color amarillo; los puntos necróticos aumentan rápidamente de tamaño y cuando su diámetro es de 6 mm o más pueden distinguirse anillos concéntricos en la zona de color castaño claro. Las lesiones en el tallo de las plántulas son pequeños, oscuros y ligeramente hundidos, pero pueden aumentar de tamaño para formar lesiones circulares o alargadas con anillos concéntricos pronunciados quedando el centro de coloración más clara. La infección ocurre en la intersección al cáliz o al tallo. Tanto en estado verde o maduro; a menudo el fruto se cae y puede causar del 30-50% de frutos inmaduros (Paulus, 2001).

Estudios realizados en Costa Rica sobre el control microbiológico de *Phytophthora infestans* en tomate, determinaron que de 137 aislamientos 32 mostraron efecto antagonico y redujeron significativo del tamaño de la lesión en condiciones de laboratorio, de los cuales se seleccionaron cinco los de mayor potencial (Sánchez, Bustamante y Shatottock, 1998).

Posteriormente, se evaluaron en condiciones de invernadero cuyos resultados mostraron que la cepa *Trichoderma* 069 y *Penicillium* 067 redujeron el numero de lesiones y el área foliar afectada por planta con relación a los tratamientos testigo (solo agua) y similar al uso de fungicida (Sánchez, Bustamante y Shatottock, 1999). Por otra parte, se menciona que el antagonista *Trichonoderma harzianum* tiene efecto sobre *Rhizoctonia solani* (Fernández – Larrea, 2001). Reportes sobre la actividad biocontroladora *in Vitro* de la cepa A34 de *T. harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en tomate se observo la eficacia antagonica a partir de la ausencia de síntomas de la enfermedad en plantas protegidas (Reyes, *et al*; 2002).

En Ecuador se ha identificado a *T. asperellum* como antagonista de *S. rolfsii* y *R. solani* (Capuz, 2009), mientras que Cevallos (2010) reportó que la cepa G-08 de este mismo antagonista aplicado al suelo en forma líquida redujo la severidad del complejo de la marchitez del tomate.

1.1 Objetivos

1.1.1 General

Evaluar microorganismos antagonistas eficientes para el manejo de fitopatógenos foliares en cultivos hortícolas.

1.1.2 Específicos

- Realizar pruebas de eficacia de cepas de hongos antagonistas en condiciones de laboratorio
- Evaluar el efecto de seis cepas de hongos antagonistas para el manejo de *A. solani* en condiciones de invernadero.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Ubicación

El trabajo de laboratorio e invernadero se realizó en el Departamento Nacional de Protección Vegetal sección Fitopatología de la Estación Experimental Litoral Sur del INIAP “Dr. Enrique Ampuero Pareja” (antes E. E. Boliche) del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

2.2. Factores estudiados

Seis cepas de hongos antagonistas.

2.3. Manejo del experimento

a. Laboratorio

Inhibición del tubo germinativo de *A. solani*.

Con las cepas de antagonistas en concentraciones de 1×10^6 , 1×10^8 y 1×10^{10} , se prepararon suspensiones con agar agua (AA) previamente esterilizado, luego se colocaron en cajas petri; el tejido infectado por *A. solani* se colocó en papel krat para liberar los conidios. Después de 24 horas se procedió a evaluar germinación y deformación de la espora de *A. solani*, los datos fueron transformados a porcentaje.

Tratamientos.

Por cada cepa de hongo antagonista se estudiaron tres dosis lo que constituyó 18 tratamientos, se incluyeron un testigo comercial y un absoluto que se describen en el *Cuadro 1*.

Cuadro1. Tratamientos por cepa de hongo

No.	Combinación	Descripción
1	PC D1	Pedro Carbo 1 x 10 ⁻⁶
2	PC D2	Pedro Carbo 1 x 10 ⁻⁸
3	PC D3	Pedro Carbo 1 x 10 ⁻¹⁰
4	IA D1	Isidro Ayora 1 x 10 ⁻⁶
5	IA D2	Isidro Ayora 1 x 10 ⁻⁸
6	IA D3	Isidro Ayora 1 x 10 ⁻¹⁰
7	Km D1	Kilómetro 20 1 x 10 ⁻⁶
8	Km D2	Kilómetro 20 1 x 10 ⁻⁸
9	Km D3	Kilómetro 20 1 x 10 ⁻¹⁰
10	EELS D1	Estación Experimental Litoral Sur 1 x 10 ⁻⁶
11	EELS D2	Estación Experimental Litoral Sur 1 x 10 ⁻⁸
12	EELS D3	Estación Experimental Litoral Sur 1 x 10 ⁻¹⁰
13	EA D1	El Azúcar 1 x 10 ⁻⁶
14	EA D2	El Azúcar 1 x 10 ⁻⁸
15	EA D3	El Azúcar 1 x 10 ⁻¹⁰
16	RV D1	Río Verde 1 x 10 ⁻⁶
17	RV D2	Río Verde 1 x 10 ⁻⁸
18	RV D3	Río Verde 1 x 10 ⁻¹⁰
19	Timorex	Timorex (dosis comercial)
20	Testigo	Sin aplicación

Diseño experimental.

Para el porcentaje de germinación de los antagonistas y de *A. solani* se usó un diseño completamente al azar con arreglo factorial A x B + 2. Se usaron cinco unidades experimentales (repeticiones). El esquema del Andeva fue el siguiente:

Fuente de variación	Grados de libertad
Total (tr-1)	99
Repeticiones (R-1)	4
Tratamientos (T-1)	19
Factor A (cepas antagonista) (C-1)	5
Factor B (Dosis antagonista) (B-1)	2
Interacción (C-1 x D-1)	10
Factorial vs. Testigos	2
Error experimental (T (r-1))	80



La comparación de las medias se realizó con la prueba de rangos múltiples de Duncan $p = 0.05$

b. Invernadero

Inoculación del fitopatógeno.

En plántulas de tomate cultivar Floradade de siete días después del trasplante fueron inoculadas con *Alternaria solani*. Para este propósito se realizó una suspensión de crecimiento micelial del hongo con agua destilada estéril, ésta se asperjó con un atomizador manual, luego se mantuvieron con humedad ambiental que para el efecto colocó un humidificador dos horas en la mañana y dos en la tarde.

Efecto de seis cepas de hongos antagonistas sobre *A. solani*.

En macetas con capacidad de 8 kg de suelo se sembraron semillas de tomate cultivar Floradade, las que se inocularon con el fitopatógeno y después de una semana se aplicó las cepas de hongos antagonistas. La dosis utilizada fue 1×10^{10} esporas por mililitro.

Para preparar la solución de los antagonistas se tomó crecimiento micelial de cada uno de ellos y diluyó en agua destilada estéril y con la ayuda de una cámara de Newbauer se contaron el número de esporas, luego se formuló de acuerdo a la concentración requerida. Las aspersiones se realizaron con los primeros síntomas visibles de la enfermedad y se aplicaron con un atomizador manual.

Tratamientos y diseño experimental.

Se evaluaron seis cepas de antagonistas y cada una constituyó un tratamiento y se incluyeron dos testigos: un comercial (Timorex) y un absoluto, lo que totalizó ocho tratamientos y fueron los siguientes:

1. Cepa Pedro Carbo
2. Cepa Isidro Ayora
3. Cepa EELS
4. Cepa Km 20
5. Cepa Río Verde
6. Cepa El Azúcar
7. Testigo químico
8. Testigo absoluto

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar con 5 unidades experimentales (macetas). El esquema del análisis de varianza fue el siguiente:

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	39
Tratamientos	7
Error experimental	32

Para la comparación de la medias se utilizaron la prueba de rangos múltiples de Duncan $p = 0.05$

Con los datos de temperatura y humedad relativa se hicieron correlaciones con los porcentajes de folíolos afectados por *A. solani*.

Variables registradas.

Inhibición de tubos germinativos.

A las 24 horas después de efectuar la liberación de las esporas se contó el número de esporas y de ellas el número que germinaron. Esta información se expresó en porcentaje.

Incidencia y severidad.

En condiciones de invernadero se contaron el número de plantas con síntomas de la enfermedad. Para severidad se utilizaron la escala de Horsfall-Barratt modificada por Large (1996), donde:

- 0 = planta sana,
- 1 = 0 – 1 % de área foliar afectada,
- 2 = 1 – 3 %,
- 3 = 3 – 9 %,
- 4 = 9 – 24 %,
- 5 = 24 – 50 %,
- 6 = 50 – 76 %,
- 7 = 76 – 91 %,
- 8 = 91 – 99 % del área foliar afectada y
- 9 = planta muerta.

Temperatura y humedad relativa.

Se registraron la temperatura (°C) y humedad relativa (%). Para este propósito se instaló un Higrotermógrafo en el invernadero.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de germinación de las cepas de hongos antagonista y de *A. solani*.

Hypocrea lixi (cepa Km 20) tuvo el mayor porcentaje de germinación en las tres dosis, seguido de la cepa EELS en las dos dosis 1×10^{-8} y 1×10^{-10} , los menores valores fueron con *Trichoderma asperellum* cepas río Verde y El Azúcar. Los menores porcentajes de esporas de *A. solani* germinada fueron en las cepas EELS y Río Verde (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de germinación de seis cepas de hongos antagonistas y de *A. solani*. Yaguachi, 2011.

Cepas	PORCENTAJE DE GERMINACIÓN					
	Antagonistas			<i>Alternaria solani</i>		
	10^{-6}	10^{-8}	10^{-10}	10^{-6}	10^{-8}	10^{-10}
Pedro Carbo	60,00	86,00	54,00	14,90	40,00	40,00
Isidro Ayora	22,00	47,00	98,00	15,00	20,00	20,00
Km 20	100,00	100,00	100,00	37,16	37,60	38,20
EELS	65,00	97,00	100,00	15,25	15,00	15,00
El Azúcar	8,33	15,79	28,20	27,86	26,11	26,40
Río Verde	24,71	26,07	23,13	10,82	10,25	18,89
Timorex*					50	
Testigo absoluto**					85	
C. V. (%)		1,13			3,02	

* Solo se usó la dosis comercial de Timorex

**sin aplicación

Las interacciones entre las cepas y dosis muestran que *H. lixi* (cepa Km 20) en las tres dosis tuvieron el mayor porcentaje de germinación, e igual a las dosis mayores con la cepa EELS (Figura 1).

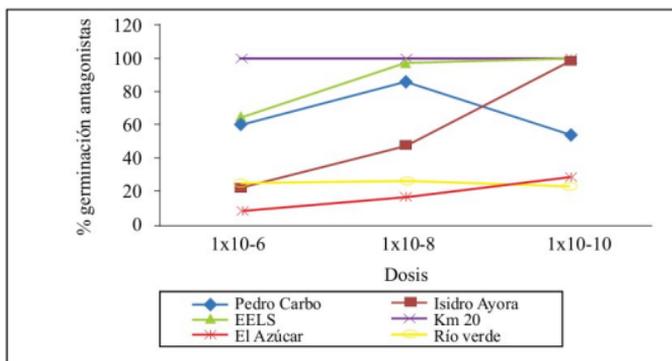


Figura 1. Interacción del porcentaje de germinación de seis cepas de antagonistas en condiciones de laboratorio. Yaguachi, 2011.

Las interacciones entre cepas de antagonistas sobre la germinación de esporas *A. solani* muestran que el mejor efecto fue con *T. asperellum* cepa Río Verde en las dosis más bajas, seguido de la cepa EELS con un comportamiento similar en las tres dosis (Figura 2).

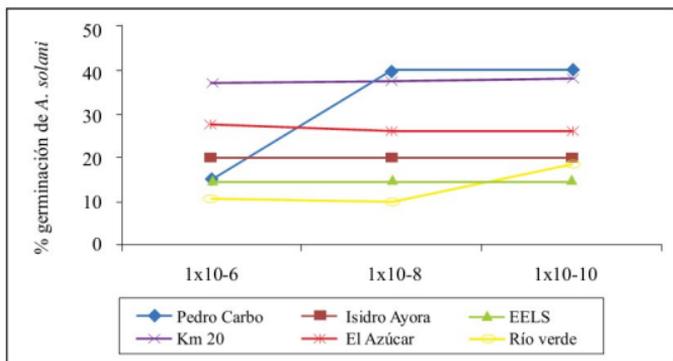


Figura 2. Porcentaje de germinación de *A. solani* frente a seis cepas de antagonistas en condiciones de laboratorio. Yaguachi, 2011.

Inhibición de tubos germinativos y daños en esporas de *A. solani* y *C. cassiicola* por efecto de los antagonistas.

El efecto de las cepas del antagonistas sobre las esporas de *A. solani* no mostraron interacción entre las dosis, solamente entre cepas, por lo que se analizaron entre

ellas tomando a las dosis como repeticiones. *T. asperellum* cepa El Azúcar fue la de mayor efecto con 43,76% de esporas sin daños y estadísticamente diferente; las cepas Pedro Carbo e Isidro Ayora tuvieron los menores valores y fueron iguales entre sí (Cuadro 3).

Cuadro 3. Porcentaje de esporas de *A. solani* sin daños cuando se trataron con seis cepas de hongos antagonistas en condiciones de laboratorio. Yaguachi, 2011.

Cepas	Dosis			Promedio
	1×10^6	1×10^8	1×10^{10}	
Pedro Carbo	4,65	100,00	0,00	34,88 b ^{1/}
Isidro Ayora	1,45	85,00	20,00	35,48 b
EELS	2,90	100,00	15,00	39,30 ab
Km 20	0,00	63,00	46,00	36,33 ab
El Azúcar	31,19	73,89	26,19	43,76 a
Río verde	8,33	92,52	13,33	38,06 ab
C.V. (%)	12,12			

^{1/} Cifras de las columnas con la (s) misma (s) letra (s) son iguales estadísticamente de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan P=0,05

El efecto de las cepas de antagonistas y sus dosis sobre esporas de *A. solani* deshidratadas mostraron interacciones. Las cepas Isidro Ayora y Río Verde tuvieron los mayores porcentajes de esporas deshidratadas (Figura 3).

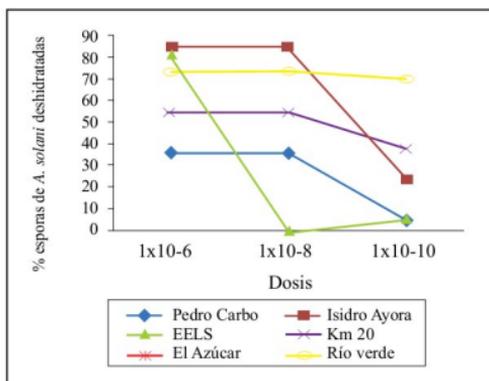


Figura 3. Porcentaje de esporas de *A. solani* deshidratadas por efecto de seis cepas de antagonistas en condiciones de laboratorio. Yaguachi, 2011.

Con respecto al porcentaje de esporas de *A. solani* deshidratadas por efecto de seis cepas antagonistas muestran que la Río Verde en las tres dosis evaluadas tuvo el mismo comportamiento, seguido de la cepa Isidro Ayora con las dos primeras dosis, posiblemente se deba al efecto de micoparasitismo o de antibiosis, pues, Torres, Iannacone y Gómez (2008) mencionan que ciertas especies de *Trichoderma* ejercen sobre el patógeno tres tipos fundamentales como son competencia directa por espacio y nutrientes, producción de metabolitos antibióticos de naturaleza volátil o no y parasitismo directo.

Efecto de seis cepas de hongos antagonistas sobre *A. solani* en invernadero.

El efecto de seis cepas de hongos antagonistas de *A. solani* en el cultivar Floradade muestran un comportamiento variable durante la evaluación. Los promedios generales indican diferencias significativas entre tratamientos; los menores valores de infección en los folíolos fueron en las cepas Pedro Carbo, EELS y Km 20 con 2,94; 3,12 y 3,64 % en su orden, todos ellos estadísticamente diferentes. Los mayores porcentajes fueron con las cepas de El Azúcar, Río Verde y el testigo absoluto siendo estos dos últimos iguales entre sí (Cuadro 4).

Cuadro 4. Porcentaje de folíolos con *A. solani* en el cultivar Floradade en condiciones de invernadero. Yaguachi, 2011.

Fechas	Cepas							Timorex	Testigo
	Pedro Carbo	Isidro Ayora	EELS	Km 20	El Azúcar	Río Verde			
14-jun	3,09	6,27	2,97	2,73	24,02	18,62	2,43	6,16	
21-jun	1,94	3,76	3,53	4,44	7,10	7,48	2,45	5,30	
28-jun	2,45	3,78	3,64	4,19	5,98	6,31	2,10	6,10	
05-jul	4,26	2,74	2,36	3,20	5,98	4,91	12,23	19,60	
Media	2,94 g	4,14 d	3,12 f	3,64 e	10,77 a	9,33b	4,80 c	9,29b	
C.V.	2,19 %								

Cifras de las columnas con la (s) misma (s) letra (s) son iguales estadísticamente de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan P=0,05

La cepa Pedro Carbo con la temperatura mínima (Figura 4A) y la humedad relativa (Figura 4B) tuvieron efecto sobre el incremento del porcentaje de folíolos infectados por *A. solani*; los valores de la regresión cuadrática fueron $r^2 = 1$ y $r^2 = 0,98$, en su orden.



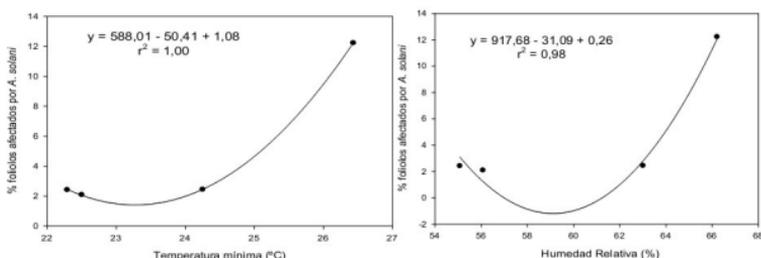


Figura 4. Regresión cuadrática de temperatura (A) y humedad relativa (B) con el porcentaje de foliolos afectados por *A. solani* tratados con el antagonista cepa Pedro Carbo. Yaguachi, 2011.

La cepa EELS en las dos variables climáticas mostró disminución en el porcentaje de foliolos afectados por *A. solani*; la temperatura superior a 23 °C (Figura 5A) y más de 56 % tiende a decrecer la enfermedad (Figura 5B); los valores de la regresión fueron $r^2=0,51$ y $0,56$ en su orden.

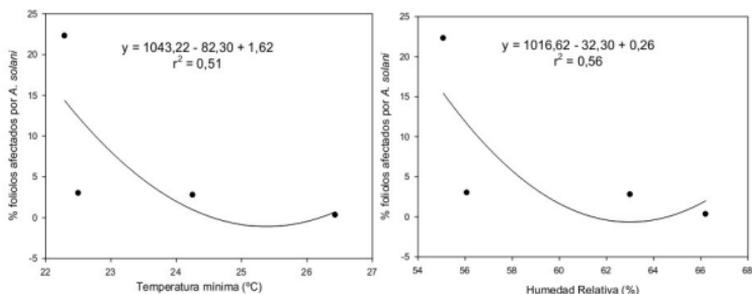


Figura 5. Regresión cuadrática de la temperatura (A) y humedad relativa (B) con el porcentaje de foliolos afectados por *A. solani* tratados con el antagonista cepa EELS. Yaguachi, 2011.

La cepa Km 20 a 24 °C mostró disminución del porcentaje de foliolos infectados por *A. solani* (Figura 6A), similar comportamiento la humedad relativa con más de 58 % (Figura 6B); los valores de la regresión cuadrática fueron $r^2=0,50$ y $0,57$ respectivamente.

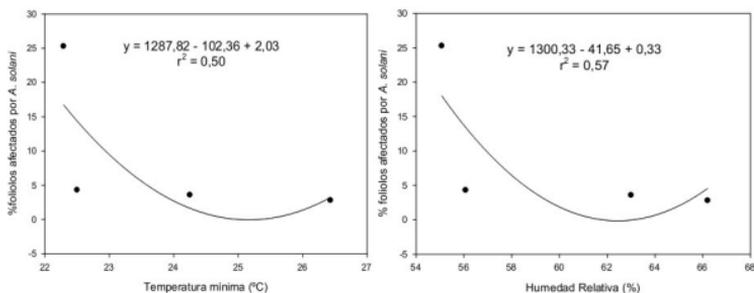


Figura 6. Regresión cuadrática de la temperatura (A) y humedad relativa (B) con el porcentaje de foliolos afectados por *A. solani* tratados con el antagonista cepa Km 20. Yaguachi, 2011.

En condiciones de invernadero la cepa Km 20 que es *Hypocrea lixii* (teleomorfo de *T. harzianum*) que tuvo un mejor resultado con respecto al porcentaje de foliolos afectados por *A. solani*, similar respuesta obtuvieron Torres, Iannacone y Gómez (2008) quienes reportan que *Trichoderma harzianum* fue más eficiente que las otras tres especies de *Trichoderma* debido a que redujo la severidad de la enfermedad.

Con respecto a la temperatura, si bien, donde se efectuó el estudio la temperaturas fluctuaron entre 24 y 35 °C, mediante el análisis de regresión se observó en los dos cultivares similar comportamiento sobre el porcentaje de foliolos afectados por *A. solani*, en la que se muestra que 24 °C es la temperatura favorable para este patógeno; temperaturas entre 25 a 30 °C son óptimas para el crecimiento de especies de *Trichoderma* como lo reportan Torres, Iannacone y Gómez (2008).

4. CONCLUSIONES

El daño más evidente de los hongos antagonistas sobre esporas de *A. solani* fue la deshidratación lo que no le permitió una germinación normal especialmente con la cepa Río Verde.

Los menores porcentajes de foliolos infectados por *A. solani* fueron en los tratamientos con las cepas de antagonistas de Pedro Carbo y EELS.

Las correlaciones mostraron que temperaturas entre 24 a 26 °C y humedad relativa superior a 60% son los factores que favorecen el desarrollo de la enfermedad.

5. AGRADECIMIENTOS

A las autoridades de la Universidad de Guayaquil, de manera especial al Sr. Rector

y Vicerrector Académico. A la Economista Jenny Escobar de Naranjo, Directora de DIPA, Universidad de Guayaquil. Al INIAP, EELS por su colaboración en esta investigación. A los productores hortícolas de las provincias de Guayas y Santa Elena, por dar facilidades en los muestreos de campo.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Carvajal T. En Manual de cultivos hortícolas (estación Experimental Portoviejo) 1997. p 5.
- Capuz, R. 2009. Identificación de Microorganismos Antagonistas de Fitopatógenos de Suelo y su Efecto *in Vitro* e Invernadero en Especies Hortícolas. Tesis de Grado. Guayaquil, EC, Facultad de Ciencias Agrarias. p 43.
- Cevallos, S. 2010. Estudio de Eficacia de *Trichoderma* Cepa G008 sobre el Complejo Marchitez del Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Tesis de Grado. Guayaquil, EC, Facultad de Ciencias Agrarias. . p 43.
- Fernández – Larrea. O. Temas interesantes a cerca del control microbiológico de plagas. Instituto de investigaciones de Sanidad Vegetal. Cuba. 2001.
- MAGAP/SIGAGRO. Disponible en [www. MAGAP](http://www.MAGAP). Consultado en julio de 2011
- Paulus A. O. 2001. la podredumbre Negra del cuello. En Plagas y Enfermedades del tomate. Ediciones Mundi Prensa. Madrid España. P 13-14
- Reyes. R., Barranco B., García. G. & Jiménez G. 2002. Actividad *in Vitro* de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en plántulas de tomate. En Manejo Integrado de Plagas No. 66 P 45-48.
- Sánchez G.V., Bustamante E y Shatottock. R. 1998. Selección de de antagonistas para el Control microbiológico de *Phytophthora infestans* en tomate. En Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 48. p 25 – 34.
- Sánchez G.V., Bustamante E y Shatottock. R. 1999. Control microbiológico de *Phytophthora infestans* en tomate. En Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 51 p 47 - 58.
- Torres, E., Iannacone, J. y Gómez, H. 2008. Biocontrol del *Moho foliar* del tomate *Cladosporium fulvum* empleando cuatro hongos antagonistas. Revista de ciencias agronómicas Bragantia. Br. Vol. 67 (001): 169-178.