

Antagonismo "*in vitro*" de *Trichoderma harzianum* sobre aislados camagüeyanos de *Bipolaris oryzae* y *Sarocladium oryzae*

"*In vitro*" antagonism of *Trichoderma harzianum* against *Bipolaris oryzae* and *Sarocladium oryzae* isolated from Camagüey

Ernesto Juniors. Pérez Torres¹, Pausides Milanés Virelles², Alexander Bernal Cabrera³, Michel Leiva Mora⁴, Graciela García Rivero², Luis Patricio Lobato Caisa⁵, Lady Maribel Cañar Aguirre⁵, Yurisandra Sierra Reyes¹, Odalis Mena Castro¹.

1. Departamento de Agronomía. Universidad de Camagüey "Ignacio Agramante y Loynaz". Circunvalación Norte km 5 y medio. Camagüey, Cuba.

2. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Camagüey. Avenida Carlos J. Finlay. km 2¹/₂. Camagüey.

3. Centro de Investigaciones Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5¹/₂. Santa Clara, Cuba.

4. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuani km 5¹/₂. Santa Clara, Cuba.

5. Universidad Técnica de Cotopaxi. Avenida Simón Rodríguez s/n. Barrio El Ejido. Sector San Felipe. Latacunga-Ecuador. Apartado Postal 160, C.P.25900.

E-mail: ernestoj@uclv.edu.cu; ernesto.perez@reduc.edu.cu

RESUMEN. *Bipolaris oryzae* y *Sarocladium oryzae* son los principales hongos causantes de enfermedades fúngicas en arroz en Cuba. Se evaluó el efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre aislados de *B. oryzae* y *S. oryzae*, procedentes de Camagüey. Se evaluó el tiempo de exposición y las interacciones entre *T. harzianum* y los hongos fitopatógenos. También se evaluaron los mecanismos de acción de micoparasitismo, competencia y antibiosis. A partir de las 48 horas se comprobó la interacción hifal entre el hongo *B. oryzae* y *T. harzianum*. Se observó enrollamiento, penetración hifal, lisis y vacuolización en hifas parasitadas de *B. oryzae*. A las 240 horas, la actividad hiperparasítica del antagonista mostró una colonización total de la superficie micelial de *B. oryzae* con un 67.10% de Inhibición del Crecimiento Radial. En el caso de *S. oryzae*, se obtuvo una inhibición de 64.4% con una colonización del 75% de la placa por *Trichoderma* a partir de las 72 horas. La antibiosis se observó en ambos agentes fitopatógenos a las 24 horas. No se mostraron diferencias significativas en los mecanismos de competencia y antibiosis entre las interacciones antagonista- fitopatógenos fúngicos. Las evaluaciones "*in vitro*" confirmó, la actividad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente *B. oryzae* y *S. oryzae*, lo cual podría constituir una alternativa promisoriosa para lograr un manejo sostenible de las enfermedades fúngicas del arroz.

Palabras clave: antagonista, antibiosis, competencia, micoparasitismo, *Trichoderma*.

ABSTRACT. *Bipolaris oryzae* and *Sarocladium oryzae* are the principal causal agents of rice disease in Cuba. The aim of this work, was to determine antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* against *B. oryzae* and *S. oryzae* isolated from Camagüey. Exposition time and interactions amongs *T. harzianum* and the fungal causal agents. Also antagonistic mechanisms (micoparasitism, competence and antibiosis) were evaluated. At 48 hours hyphal interaction between *B. oryzae* and *T. harzianum* were determined. Hyphal Coiling, penetration, lysis and vacuolization on parasited *B. oryzae* were observed. At 240 hours, hiperparasite activity of antagonist showed total colonization of mycelial of *B. oryzae* with 67.10% growth inhibition. In the case of *S. oryzae*, growth inhibition was 64.4% with 75% of colonozation of total surface of Petri dish. Antibiosis was observed in both fungal causal agents at 24 hours. Non differences were determined in the competence and antibiosis mechanism among antagonist-fungal causal agents interactions. fúngicas del arroz. Evaluation of "*in vitro*" antagonism of *Trichoderma harzianum* against *B. oryzae* and *S. oryzae* could be a promising alternative for a sustainable management of the principal causal agents of rice disease in production areas of Cuba.

Key words: antagonist, antibiosis, competence, micoparasitism, *Trichoderma*.

INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es el principal alimento de una tercera parte de la población mundial. En Cuba constituye la base de la dieta de la población, con 69,5 kg anuales per cápita, ubicándose entre las naciones de

alto consumo (FAO, 2010), sin embargo el potencial de las variedades existentes en el territorio es superior a 6 t.ha⁻¹ MINAGRI (2006), la producción arrocerana nacional no satisface la demanda interna (Polón y Castro, 2010), por lo que se necesita un alto porcentaje de importación, debido a que el rendimiento agrícola es inferior al obtenido a nivel mundial.

El rendimiento del arroz se ve limitado por la presencia de un complejo de hongos fitopatógenos, entre ellos *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker y *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams y Hawks (Rivero, 2008). Para el control de los mismos las principales medidas son variedades resistentes y la lucha química.

La introducción de controles biológicos y estimuladores del crecimiento vegetal en arroz, permiten reducir los costos de producción y aumentar la estabilidad en el rendimiento, con una menor aplicación de productos químicos que dañen el ambiente. (Prado et al., 2001)

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Departamento de Micología del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal (LPSV) de Camagüey, en el período comprendido de julio a octubre del 2009.

Se utilizaron aislados virulentos de los hongos fitopatógenos *B. oryzae* y *S. oryzae*, pertenecientes a la micoteca del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Camagüey y como antagonista se empleó *T. harzianum* Rifai (cepa A-34), perteneciente al Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV).

Las siembras del antagonista y los hongos patógenos se realizaron por el método de cultivo dual (Bell et al., 1982). Se tomaron discos de 10 mm de diámetro de los aislamientos de cada agente patógeno y del antagonista y se depositaron en placas de Petri de 90mm de diámetro, con medio de cultivo Papa – Dextrosa - Agar (PDA) a pH 5.5 y se incubaron a una temperatura de 27±1°C y oscuridad.

Se utilizó un experimento bifactorial con los factores tratamiento (1.- Interacción *T. harzianum*-*B. oryzae*, 2.-Interacción *T. harzianum*-*S. oryzae*, 3.-Control *B. oryzae* y 4.- Control *S. oryzae*) y el factor tiempo (en un intervalo de 24 horas a 240 horas), Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cinco réplicas.

Obregón (2003) refiere a *Trichoderma* como una alternativa para reducir las enfermedades fúngicas en arroz. Fernández (2001) expone que esta capacidad antagonica y de desarrollarse en agroecosistemas adversos hace que disminuyan los daños que causan hongos patógenos. Dentro de los mecanismos de acción que posee *Trichoderma*, se encuentran la competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno, resistencia inducida, entre otros. Mientras mayor sea la probabilidad de *Trichoderma* de manifestar varios de estos mecanismos; más eficiente y duradero será el control sobre estos hongos patógenos, aspectos que no poseen los plaguicidas químicos. (Infante, 2009)

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la capacidad antagonica “in vitro” de *T. harzianum* Rifai, sobre aislados de los hongos fitopatógenos *B. oryzae* y *S. oryzae* procedentes de la Empresa Arrocerana de Camagüey.

Se evaluaron los mecanismos de acción de competencia por el sustrato, micoparasitismo y antibiosis de *T. harzianum*.

Competencia por el sustrato: Para evaluar la competencia por el sustrato se evaluó el diámetro del crecimiento radial de los agentes patógenos con una regla graduada en cada uno de los tratamientos durante el tiempo que transcurrió el experimento (24 horas a 240 horas). Para determinar la capacidad antagonica de *T. harzianum* (cepa A-34), se utilizó la escala de 5 grados planteada por (Bell et al., 1982). Se evaluó el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR), mediante la fórmula de Samaniego et al. (1989), citada por Bernal et al. (2001). $PICR = [(R1 - R2)/R1] \times 100$. Donde R1 es el crecimiento radial del testigo y R2 el crecimiento radial del tratamiento con la interacción entre el antagonista y el patógeno.

Micoparasitismo: Se tomaron 3 muestras por cada tratamiento en el sitio de contacto entre las hifas del antagonista con las de los patógenos fúngicos en interacción a partir de las 24 horas hasta las 240 horas, determinando el tipo o tipos de interacción hifal (penetración, vacuolización, lisis y/o enrollamiento) observando al microscopio óptico con aumento de 400x.

Antibiosis: Para la comprobación del efecto antibiótico de *T. harzianum* (cepa A-34), se evaluó el PICR en cultivo dual a las 24 horas, momento, donde no existía contacto físico entre el antagonista y los hongos patógenos.

Los datos se procesaron por el paquete estadístico SPSS versión 11.5, a través de un análisis de varianza y se utilizó la Prueba de Tukey a $p < 0.05$ de significación, y se uso como variables respuestas el crecimiento radial, el PICR y el grado de capacidad antagónica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Acción antagónica “*in vitro*” de *Trichoderma harzianum* Rifai frente a *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker.

T. harzianum frente al hongo *B. oryzae* manifestó antagonismo a las 24 horas después la siembra, con valores de 1,6 cm y en el control de 1,5 cm; obteniéndose un PICR de 6,3% (Tabla 1), mostrando el mecanismo de acción de antibiosis. El comportamiento inhibitorio del agente patógeno se incrementa hasta valores de 67,1% a las 240 horas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Alfonso *et al.* (2006) los que aplicaron “*in vitro*”

Trichoderma harzianum y sus filtrados contra *Bipolaris spicifera*, reduciendo el crecimiento micelial del hongo patógeno, demostrando su capacidad antibiótica mediante la acción de metabolitos secundarios volátiles del antagonista, que favorecieron la inhibición del crecimiento radial del agente causal. Rivero (2008), obtuvo resultados satisfactorios al estudiar la aplicación “*in vitro*” de Quitosana y metabolitos producidos por los aislados de *Trichoderma spp* T-75 y T-85 en el control de *B. oryzae*, con un PICR que oscila entre 10% y 45% observando más de dos tipos de micoparasitismo.

Tabla 1. Interacción de *Trichoderma harzianum* y *Bipolaris oryzae* (+) Presencia del mecanismo de acción

Tiempo (horas)	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240
Crecimiento Radial del patógeno. Control (cm)	1,6	2,7	3,9	4,6	5,5	6,2	7,0	7,6	8,1	8,5
Crecimiento Radial del patógeno en interacción con <i>Trichoderma</i> (cm)	1,5	2,5	3,0	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,8
Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (%)	6,3	7,4	25,6	35,0	46,8	53,2	58,9	62,0	64,2	67,1
Grados según escala de Bell		2	2	1	1	1	1	1	1	1
Antibiosis	+									
Micoparasitismo	Enrollamiento +		Penetración +		Lisis +		Vacuolización +			

Los resultados de la competencia por el sustrato se ubicaron en el grado 2 de capacidad antagónica desde las 24 horas a 72 horas y a partir de las 96 horas todas las observaciones se ubicaron en el grado 1. Estos resultados demuestran que *T. harzianum* (cepa A-34) es un excelente competidor por nutrientes y espacio. Se manifiesta interacción hifal entre el antagonista y el agente patógeno, observándose micoparasitismo por penetración, enrollamiento o estrangulamiento del contenido citoplasmático, lisis y vacuolización, lo que evidencia que *T. harzianum* actúa como buen antagonista del aislado de *B. oryzae*. Estos resultados tienen similitud con los obtenidos por Rivero *et al.* (2009) quienes comprobaron el efecto inhibitorio del crecimiento micelial del polisacárido Quitosana Comercial Sigma ante hongos fitopatógenos que inciden en el manchado del grano de arroz, obteniendo resultados satisfactorios.

El crecimiento micelial del hongo patógeno se duvo (Figura 1), y a partir de las 96 horas la competencia por el sustrato muestra una alta capacidad antagónica a través de un hiperparasitismo de la cepa A-34 de *T. harzianum* frente a el aislado de *B. oryzae* proveniente de la Empresa Arrocería “Ruta Invasora” del sur de la provincia Camagüey. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Fumero (2010) al evaluar las cepas A-34 y A-54 de *T. harzianum* en el control “*in vitro*” de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz), Penz & Sacc al obtener a las 96 horas un crecimiento promedio lineal de 7,23 cm en la cepa A-53, de 8,10 cm en la cepa A-34 con los mejores resultados a temperaturas de 28 a 33°C.

La acción antagónica de la cepa A - 34 de *T. harzianum* frente a *S. oryzae* (Tabla 2), mostró un crecimiento radial en la interacción antagonista-patógeno

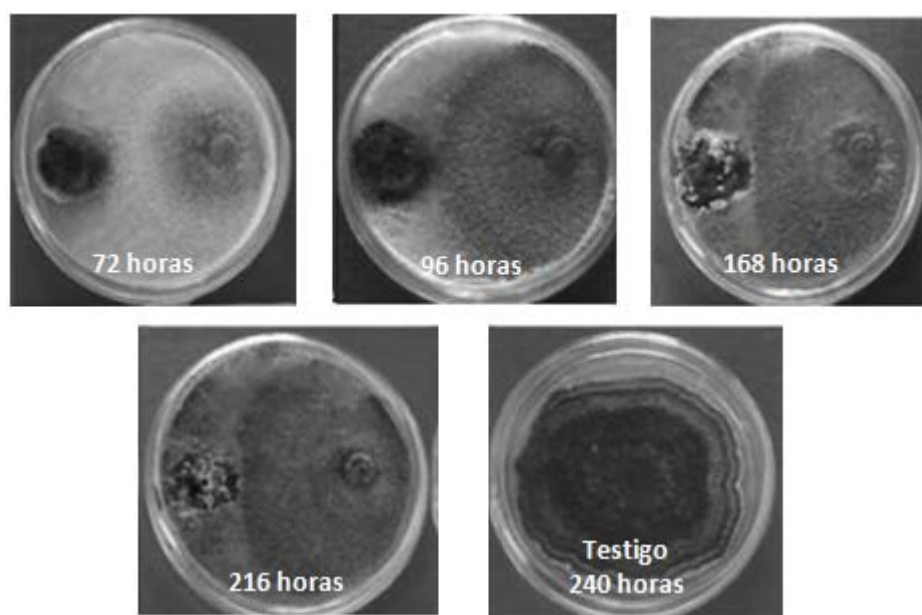


Figura1. Competencia de *T. harzianum* frente a *B. oryzae*

de 1,4 cm y un crecimiento radial del testigo de 1,5 cm con el valor del PICR de 4,1%, manifestándose los mecanismos de acción de competencia y antibiosis. Este último puede estar dado por la acción de metabolitos volátiles y no volátiles, enzimas y antibióticos. Autores como Stefanova *et al.* (2001) probaron los aislamientos A-34, A-53, A-86 de *T. harzianum*, en medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar,

limitando el crecimiento de especies de hongos fitopatógenos por la presencia de metabolitos biológicamente activos. Estos autores constatan en los filtrados la presencia de las enzimas líticas carboximetilcelulasa, quitinasa y b 1,3 glucanasa. (Sueli *et al.*, 2007), determinan la acción de sustancias volátiles y no volátiles en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc. con varios aislamientos de *T. harzianum* Rifai.

Tabla 2 Interacción de *Trichoderma harzianum* y *Bipolaris oryzae*

Tiempo(horas)	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240
Crecimiento radial del patógeno. Testigo (cm)	1,5	3,0	4,0	4,9	5,9	6,3	6,9	7,4	7,8	8,2
Crecimiento radial del patógeno en interacción con <i>Trichoderma</i> (cm)	1,4	2,8	3,1	3,3	3,2	3,1	3	3	2,9	2,9
Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (%)	6,2	6,7	23,6	32,1	46,1	50,8	56,3	59,6	62,6	64,4
Grados según la escala de Bell		2	2	2	2	2	2	2	2	2
Antibiosis	+									
Micoparasitismo	Enrollamiento +		Penetración +		Lisis +		Vacuolización +			

Otros autores como Arzate *et al.* (2006), encontraron en *Trichoderma spp.* un buen antagonista sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, en condiciones “in vitro” e invernadero, con un alto nivel de antagonismo que expresa en el grado 1 de la escala de Bell y con los menores porcentajes ponderados de infección con 0,70% y 0,88% en invernadero. Reyes *et al.* (2007) obtiene resultados similares con la aplicación de *T. harzianum* cepas A-53 y A-34 en el control de los fitopatógenos del arroz *Rhizoctonia solani* Kühn y de *Pyricularia grisea* Sacc., demostrando la elevada capacidad hiperparasítica y competitiva; encontrando diferencias altamente significativas entre el crecimiento radial de los patógenos en interacción con *Trichoderma*

con respecto a los testigos, demostrando mayor antagonismo la cepa A-34 y Reyes (2011) obtiene buenos resultados en el control de *R. solani* Kühn con aislados de *Trichoderma spp.* provenientes de suelos arroceros, con valores del PICR de más de 90%, con cuatro tipos de micoparasitismo.

T. harzianum frente al patógeno *S. oryzae* a las 48 horas y 72 horas, mostró un crecimiento radial en la interacción con valores de 2.8 cm y 3.1 cm respectivamente y el testigo manifestó valores de 2.96 cm y 4.06 cm, con un PICR de 5.4 % y 23.6 %. A las 72 horas se notó un incremento en el PICR producto de que el antagonista manifiesta su capacidad antagonica

a través del grado 2 de la escala utilizada, además de que se detecta interacción hifal entre los microorganismos, manifestándose a partir de este momento el mecanismo de acción de micoparasitismo a través de los eventos mencionados anteriormente. Estos resultados coinciden con Monte (2002), quienes argumentan la capacidad que tienen las especies del género *Trichoderma* de atacar los hongos patógenos en diferentes estados de desarrollo. La interacción *T. harzianum* frente a *S. oryzae* entre las 96 horas y las 240 horas alcanzó valores desde 3.3

cm a las 96 horas hasta 2.9 cm a las 240 horas, el control mostró valores entre 4.86 cm y 8.16 cm. El PICR se incrementó a medida que transcurrió el tiempo de exposición del antagonista con el agente patógeno, hasta el valor de 64.4%. Las hifas de *Trichoderma* ocupan las dos terceras partes de la placa y no cubren el disco del agente causal, obteniéndose un grado 2 de la escala utilizada. En el período se observó que las colonias del agente causal detienen su crecimiento debido a la acción antagónica de *T. harzianum* (Figura 2)

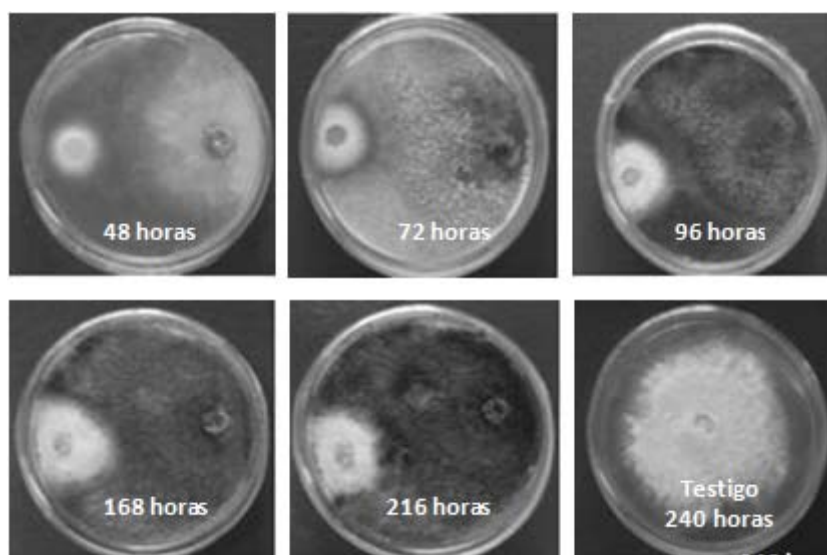


Figura2. Competencia de *T. harzianum* frente a *S. oryzae*

Las hifas de *Trichoderma* no han colonizado al disco de *S. oryzae* a las 240 horas, pero si consiguieron detener y reducir el crecimiento micelial del hongo patógeno. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Martínez *et al.* (2010) quienes lograron un control de *S. oryzae* con aislados de *Trichoderma* spp.; que presentaron al menos dos tipos de interacción hifal y alta capacidad antagónica.

El Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial en el factor tiempo para ambos agentes causales frente a *T. harzianum* (Figura 3), mostró significación a partir de las 120 horas hasta las 240 horas con el resto de los tiempos evaluados, con un incremento a medida que transcurre el tiempo de exposición patógeno-antagonista. Esto puede estar dado por la adaptación del antagonista al medio de cultivo donde se desarrolla y las condiciones de temperatura, lo que favoreció el incremento de la actividad antagónica de *T. harzianum* a través de la competencia, aunque este incremento también puede estar dado por la acción del micoparasitismo y la antibiosis. Este resultado coincidió con los obtenidos por Bernal *et al.* (2001) quienes evaluaron varios aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium*

oxysporum sp. *cubense*, con un incremento del PICR a medida que se fue ampliando el tiempo de exposición de los aislamientos del antagonista con el patógeno.

No se manifestaron diferencias significativas en el crecimiento radial en los tratamientos de interacción patógeno-antagonista (Figura 4) y sí entre estos con los controles de *B. oryzae* y *S. oryzae*. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Castellanos *et al.* (2009) en el control de nematodos del género *Meloidogyne* spp. en cultivos protegidos de la provincia de Cienfuegos, con vistas a la sustitución del fumigante Bromuro de Metilo (BrM) con la aplicación de la cepa A-34 de *T. harzianum* y otros bionematicidas. Estos resultados coinciden con Rojas (2006), quien utiliza las combinaciones de brócoli, calcio y *T. harzianum* en el control de *Sclerotium cepivorum* Berk, logrando un buen control de este hongo, cuando se combinaban dos o tres factores en estudio. También Pérez (2006) obtuvo similares resultados al combinar los factores solarización y *T. harzianum* en el control del agente causal antes mencionado.

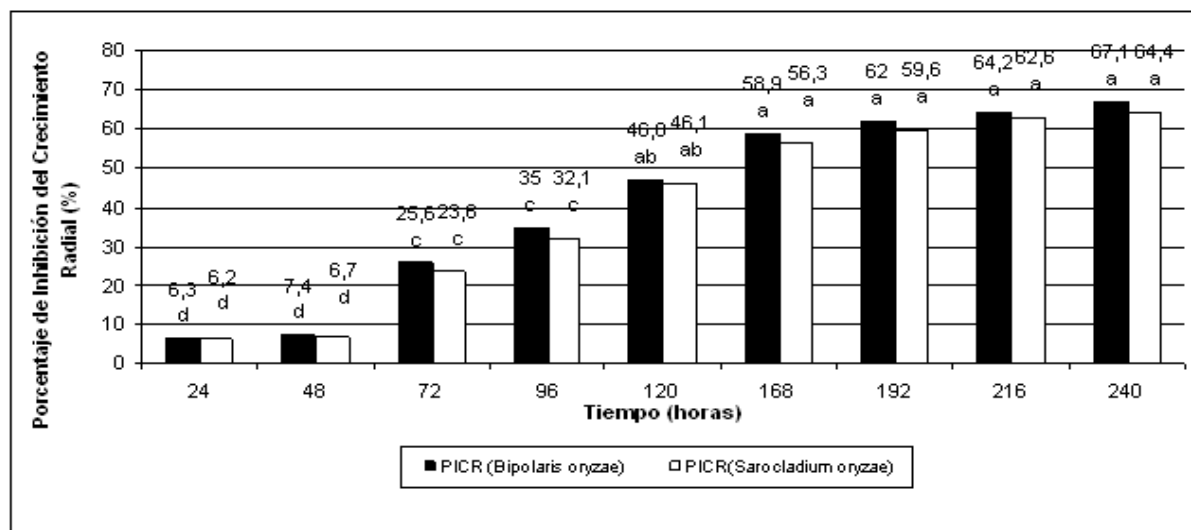


Figura3. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial de *B. oryzae* y *S. oryzae* ante *T. harzianum* en los diferentes tiempos

*Medias con letras iguales no difieren significativamente para cada hongo fitopatógeno de acuerdo al tiempo de observación.

*Error estándar (*B. oryzae* 0.91, *S. oryzae* 0.53). Desviación estándar (*B. oryzae* 0.31, *S. oryzae* 2.22).

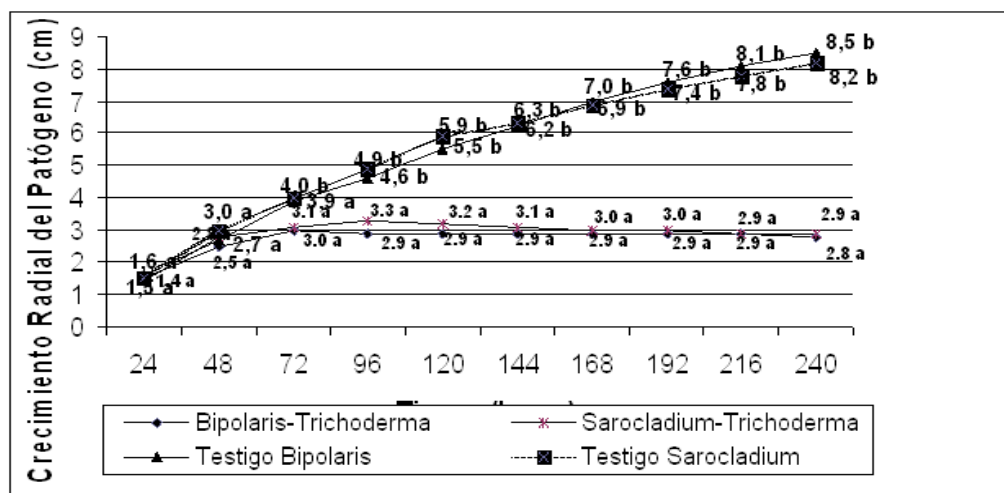


Figura4. Crecimiento Radial de los tratamientos en los diferentes tiempos

*Medias con letras iguales no difieren significativamente para cada tratamiento.

*Error estándar 0.34. Desviación estándar 2.20.

CONCLUSIONES

1. La cepa A-34 de *Trichoderma harzianum* Rifai manifiesta "in vitro" los mecanismos de acción de competencia, micoparasitismo y antibiosis sobre los aislados de los fitopatógenos fúngicos del arroz *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker y *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams y Hawks.

2. *Trichoderma harzianum* Rifai (cepa A-34) muestra el mecanismo de competencia sobre los aislados de *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker y *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams y Hawks con Porcentajes de inhibición del Crecimiento Radial de 64,4% y 67,1%.

3. Se manifiesta el mecanismo de acción de antibiosis a través del Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial de *Trichoderma harzianum* Rifai (cepa A-34) a las 24 horas, con valores de 6.3% y 6.2% sobre los aislados de *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker y *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams y Hawks

4. La cepa A-34 de *Trichoderma harzianum* Rifai expresa micoparasitismo por enrollamiento, penetración, vacuolización y lisis sobre los aislados de *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker y *Sarocladium oryzae* (Sawada) Gams y Hawks.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alfonso, Isabel., F. Alfonso, M. J. Rivera, P. Villa.: “Perspectivas del biocontrol de hongos en la semilla botánica de la caña de azúcar en Cuba”, *Fitosanidad*, 2006, 10(2): pp 125.
2. Arzate, J. A, C. Michel, V. M. Dominguez, O. A. Santos.: “Antagonismo de *Trichoderma spp.* sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la Sigatoka Negra del plátano(Musa sp) “*in vitro*” e invernadero”, *Revista Mexicana de Fitopatología*, 2006, 24(2): pp 98-104.
3. Bell, K., D. Wells, R. Markham.: “*In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens”, *Phytopathology*, 1982, 72: pp 379-382.
4. Bernal, A., C. Andreu, M. Moya, M. González, O. Fernández.: “Utilización de *Trichoderma spp.* como alternativa ecológica para el control de *Fusarium oxysporum* sp. *cubense* (E.F. Smith) Snyd. & Hans”, *Centro Agrícola*, 2001, 28(2):30-32.
5. Castellanos, L., A. Pérez, M. Almarales, B. L. Muiño, M. González, G. Pérez, J.L. Pardo, M. Gómez, D. Armas, I. Irímia, R. Delgado, D. Sumit. “Sistemas de manejo integrado de plagas como alternativa para sustituir el bromuro de metilo en la producción de cultivos protegidos en Cienfuegos”, *Fitosanidad*, 2009, 10(2): pp. 132.
6. FAO. Seguimiento del Mercado del Arroz, 2010, Disponible en: http://www.fao.org/es/esc/es/15/70/highlight_71.html. [Consultado: 12 de junio de 2011].
7. Fernández-Larrea. Orieta.: “Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario”, *Manejo Integrado de Plagas*, 2001, 62: pp 96-100.
8. Fumero, Maida., C. Ferrer, G. García.: “Efectividad *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai en el biocontrol de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz), Penz & Sacc en el cultivo del mango (*Mangifera indica* L.)”, *Fitosanidad*, 2010, 14(1): pp 66.
9. Infante, Deyanira. B. Martínez, N. González, Y. Reyes.: “Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos”, *Revista de Protección Vegetal*, 2009, 24(1).
10. Martínez, B., Y. Reyes, D. Infante, E. González, H. Baños, Y. Obret, A. Cruz.: “Selección *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma* para el control de hongos patógenos en arroz”, *Fitosanidad*, 2010, 14(1): pp 51-52.
11. MINAGRI, Instructivo Técnico del Arroz. Instituto de Investigaciones de Arroz, Cuba, 2006: 80p.
12. Monte, E.: Desarrollo de alternativas ecológicas para los fungicidas, 2002. <http://www.agroprofesional.com>. Consultado 17 de enero de 2012.
13. Obregón, M.: Control de enfermedades en el cultivo del arroz mediante el uso de hongos benéficos del género *Trichoderma spp.* 2003, Ediciones Organización de Estudios Tropicales, Costa Rica, 17p.
14. Prado, A., F. Correa, G. Aricada, F. Escobar: “Caracterización preliminar de la resistencia de germoplasma de arroz al añublo de la vaina (*Rhizoctonia solani* Kühn)”. *Foro Arroceros Latinoamericano*, 2001, 7(1): pp. 8-11.
15. Pérez J.L.: Solarización y *Trichoderma harzianum* Rifai como estrategia de manejo de (*Sclerotium cepivorum* Berk) en ajo (*Allium sativum* L) *BIB AGRONOMIA*, 2006, Trabajo de pregrado.
16. Polón, R.; R. Castro.: “Práctica de diferentes alturas de corte al cultivo de rebrote y su influencia en el rendimiento del arroz (*Oryza sativa* L.)”, En: XVII Congreso del INCA San José de las Lajas, La Habana, Cuba, 2010.
17. Reyes, Teresa., G. Rodríguez, A. Pupo, I. Alarcón, Y. Limonta.: “Efectividad *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai para el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Pyricularia grisea* Sacc. aislados en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.)”, *Fitosanidad*, 2007, 11(1), pp. 29-33.
18. Reyes, Yusimi.: “Aislamientos de *Trichoderma spp.* promisorios para el control biológico del tizón de la vaina (*Rhizoctonia solani* Kühn) en arroz”, Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, 2011, Mayabeque, pp. 93.
19. Rivero, Deyanira.: “Identificación y control *in vitro* con Quitosana y *Trichoderma spp.* de hongos que causan el manchado del grano en arroz (*Oryza sativa* L.)”, *Revista Protección Vegetal*, 2008, 23(1): pp 67.
20. Rivero, Deyanira., A. Cruz, B. Martínez, M. A. Ramírez, A. T. Rodríguez.: “Actividad antifúngica *in vitro* de la Quitosana Sigma frente a hongos fitopatógenos causantes del manchado del grano en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.)”, *Fitosanidad*, 2009.13(2).
21. Rojas, V. C.. “Manejo de la pudrición blanca, (*Sclerotium cepivorum* Berk.) en ajo (*Allium*

sativum L.) incorporando al suelo brócoli, calcio, y *Trichoderma harzianum* Rifai”, *BIB. AGRONOMÍA*, 2006, Trabajo de pregrado.

22. Samaniego, G.; S. Ulloa, S. Herrera.: “Hongos del suelo antagonistas de *Phymatotrichum omnivorum*”, *Revista Mexicana de Fitopatología*, 1989, 8:p. 86-95.

23. Stefanova, Marusia., A. Leiva, L. Larrinaga, M. F. Coronado.: “Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma spp.* para el control de hongos fitopatógenos del suelo”, *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 2001, 16, 509-516.

24. Sueli, M. M., Z. R. Ávila, L. Minaré, R. R. Pádua, D. Gomes.: “Cepas de *Trichoderma spp.* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc”, *Fitosanidad*, 2007, 11(1).

Recibido: 03/01/2013

Aceptado: 05/05/2013