

Actividad antagonica de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia solani* *in vitro*

Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani* *in vitro*

Eduardo Osorio Hernández¹, Francisco Daniel Hernández Castillo^{2*}, Raúl Rodríguez Herrera³, Sóstenes Edmundo Varela Fuentes¹, Benigno Estrada Drouaillet¹, José Alberto López Santillán¹

Osorio Hernández, E., Hernández Castillo, F. D., Rodríguez Herrera, R., Varela Fuentes, S. E., Estrada Drouaillet, B., López Santillán, J. A. Actividad antagonica de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia solani* *in vitro*. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. Número 67: 5-11, enero-abril 2016.

RESUMEN

Rhizoctonia solani es un patógeno importante de la papa que afecta la emergencia y desarrollo de la planta, además de provocar deformación del tubérculo. El control de este patógeno está basado en fungicidas; sin embargo, esto ha significado problemas de resistencia. Por lo anterior, se evaluaron 31 cepas de *Trichoderma* contra *R. solani* (TJ53, ACH42 y HSO) *in vitro*. Para ello se establecieron ensayos en cultivos duales, compuestos volátiles y no volátiles, en la cual se utilizaron cajas Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA). *T. asperellum* T18 y T16 fueron las cepas que mostraron efecto antagonico contra *R. solani* (TJ53, ACH42 y HSO56) en los tres ensayos realizados. Con base en este estudio se sugiere realizar pruebas en invernadero y campo con *T. asperellum* (T18) y *T. rossicum* (T1) contra *R. solani*.

Palabras clave: antagonismo, antibiosis, fitopatógeno, resistencia.

Keywords: antagonism antibiosis, phytopathogen, resistance.

Recibido: 12 de junio de 2014, aceptado: 8 de abril de 2015

¹ Facultad de Ingeniería y Ciencias, Universidad Autónoma de Tamaulipas.

² Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

³ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila.

* Autor para correspondencia: fdanielhc@hotmail.com

ABSTRACT

Rhizoctonia solani is an important pathogen of potato, which affects the emergence and development of the plant and causes deformation of the tuber. Currently strategies to control this pathogen are based on synthetic fungicides and this has originated cases of resistance. Therefore, 31 strains of *Trichoderma* against *R. solani* (TJ53, ACH42 and HSO56) were evaluated *in vitro*. For this, trials in dual cultures, volatile and non-volatile compounds were established, using Petri dishes with medium Potato Dextrose Agar (PDA). *T. asperellum* T18 and T16 showed antagonistic effect in three tests on all *R. solani* strains. Results suggest that the next stage would include greenhouse and field evaluation of *T. asperellum* (T18 y T16) and *T. rossicum* (T1) against *R. solani* strains.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas fitosanitarios más importante en el cultivo de la papa lo representan las enfermedades causadas por hongos tales como: *Phytophthora infestans*, *Fusarium* spp., *Alternaria solani* y *Rhizoctonia solani* (Guchi, 2015). *R. solani* tiene una distribución mundial y ocasiona pérdidas en hortalizas, plantas ornamentales y perennes. Es uno de los principales patógenos en el cultivo de la papa, provoca cáncer de tallo y estolón, así como costras sobre los tubérculos (Bienkowski et al., 2010), reduce la emergencia de los brotes, el vigor de la planta y los tubérculos infectados se agrietan o

deforman (Tsrer et al., 2001). Las hifas de este hongo tienen la particularidad de anastomosarse, condición que se ha tomado en cuenta para clasificarlo en grupos de anastomosis (GA) (Montero Tavera et al., 2013). Los aislados de *R. solani* obtenidos de papa generalmente se han identificado como miembros del grupo de anastomosis 3 (GA3) (Chavarro, 2011).

El GA3 se caracteriza porque en la superficie de los tubérculos forma esclerocios (masas compactas de micelio, cuyas células han reducido su tamaño y adquirido el color negro por la presencia del pigmento melanina), soporta temperaturas bajas y afecta especialmente a la papa y a las raíces de la cebada (Anguiz y Martin, 1990). En la mayoría de las regiones productoras de papa en México, el uso de fungicidas constituye la práctica más común para el control de este patógeno; sin embargo, los resultados han sido muy variables posiblemente porque los grupos de anastomosis de *R. solani* muestran diferente sensibilidad a fungicidas (Chávez Barragán et al., 2011). El uso indiscriminado de agroquímicos ha tenido grandes consecuencias, ya que se han detectado aislados de hongos resistentes a Pencycuron sobre *R. solani* (Hernández Castillo et al., 2005).

Diversos hongos de los géneros de *Penicillium*, *Trichoderma*, *Gliocladium* y *Aspergillus* han sido identificados como potenciales agentes de control biológico contra varios fitopatógenos del suelo (Reyes Ibarquén y Torres González, 2011). *Trichoderma* spp. y *Gliocladium* spp. han mostrado los mejores resultados, ya que ambos hongos ejercen su acción mediante diferentes mecanismos, entre los que juegan un rol importante el parasitismo, la competencia, la antibiosis y los compuestos volátiles (Osorio Hernández et al., 2014). Especies de *Trichoderma* han sido estudiadas como antagonistas de los patógenos *Rhizoctonia solani* (Kühn), *Pythium ultimum* (Trow) y *Sclerotinia trifoliorum* (Eriks) (Kandula et al., 2015). En otros modelos de biocontrol se están empleando especies de *Trichoderma* y *Rhizoctonia* no patogénica consideradas como hipovirulentas (binucleadas) (Carling et al., 2002), para reducir la severidad de la costa negra (*R. solani*). Por lo anterior, el objetivo fue evaluar a nivel *in vitro* diferentes aislados de *Trichoderma* spp. contra tres cepas de *R. solani*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 31 cepas de *Trichoderma* aisladas de suelo, semilla y plantas colectadas en el noreste de México, de las cuales 14 fueron identificadas previamente a nivel molecular (Osorio Hernández et al., 2011). Se evaluaron tres cepas de *R. solani* (TJ53 de Tlapalpa, Jalisco; ACH42 de Aldama, Chihuahua y HSO56 de Huatabampo, Sonora) aisladas de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) con síntomas de la enfermedad, las cuales fueron identificados por Chávez Barragán et al. (2011). Todos los antagonistas y patógenos se mantuvieron en tubo con medio de cultivo PDA inclinado a 4 °C. Los microorganismos fueron incrementados en cajas Petri con medio de cultivo PDA, por resiembra de una porción (5 mm de diámetro) de micelio, tanto de *Trichoderma* spp., como del fitopatógeno. Se incubaron a 28 °C durante dos días para *Trichoderma* spp. y tres días para *R. solani*, cepas TJ53, ACH43 y HSO56 (resistente a Pencycuron).

Evaluación en cultivos duales de *Trichoderma* contra *R. solani*

En la evaluación del antagonismo de *Trichoderma* spp. contra *R. solani* se utilizaron cultivos duales, para esto se utilizó la metodología de Cherif y Benhamou (1990). En esta etapa se determinó cuantitativamente la zona de intersección o traslape entre el hongo antagonista y el fitopatógeno. En cajas Petri con PDA se depositó en un extremo un disco de 5 mm de diámetro con micelio activo (previamente crecido en PDA) de colonias del fitopatógeno de 5 días de edad y en el otro extremo se colocó un disco de micelio y PDA de 5 mm de diámetro con *Trichoderma* spp.

Las cajas se incubaron a 28 °C y se observaron cada 24 h para registrar el número de días al primer contacto entre el antagonista y el fitopatógeno, se midió el crecimiento de ambas colonias (cm) y el diámetro de intersección y/o traslape (cm). El antagonismo se clasificó según la escala propuesta por Bell et al. (1982). El número de tratamientos para esta prueba correspondió a las 31 cepas de *Trichoderma* spp. (las que se tenía en ese momento) distribuidos bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones.

Efecto de metabolitos volátiles de *Trichoderma* contra *R. solani*

En la prueba de metabolitos volátiles de *Trichoderma*

spp. contra *R. solani* (HSO56) se utilizaron cajas Petri con medio PDA, donde se depositó un explante de 5 mm de diámetro de *Trichoderma* spp. y se incubó a 28 °C por 1 día. Con un sacabocados de 1.5 cm de diámetro y en condiciones asépticas se perforó la tapa de las cajas Petri con *Trichoderma* spp. y se unió a la caja de Petri de *R. solani* (la caja Petri en la cual se depositó el hongo fitopatógeno se colocó sin tapa) y enseguida se selló con *kleen pack*. La caja Petri que contenía el patógeno se colocó en la parte inferior las primeras 24 h para que el disco de 5 mm se adhiriera al medio de cultivo con su micelio y evitar así que el explante cayera por el orificio de la caja Petri inoculada con *Trichoderma* spp. Se invirtieron las placas, para que de esta forma los compuestos volátiles producidos por las cepas de *Trichoderma* circularan por el orificio de la caja donde se depositó el disco del fitopatógeno.

Los tratamientos se mantuvieron en observación hasta que el testigo (fitopatógeno sin *Trichoderma*) cubrió la caja Petri y se reportó en centímetros (cm) el crecimiento micelial de *R. solani*. El número de tratamientos correspondió a las 31 cepas de *Trichoderma* spp., distribuidas bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. La variable evaluada fue el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *R. solani*, que se determinó con la fórmula: % de inhibición micelial = $[(D1-D2)/D1]*100$; donde D1 = diámetro de la colonia de *R. solani* en cajas con PDA libre de *Trichoderma* y D2 = diámetro de la colonia de *R. solani* creciendo con *Trichoderma*.

Efecto de metabolitos no volátiles de *Trichoderma* contra *R. solani*

En el ensayo del efecto de sustancias tóxicas de *Trichoderma* spp. sobre *R. solani* (HSO56) se probaron tres especies de *Trichoderma*: *T. asperellum* (T2, T3, T4, T8, T10, T14, T18, T30 y T31), *T. rossicum* (T1), *T. hamatum* (T25) y T15 sin identificar a nivel especie; se utilizaron matraces Erlenmeyer (250 ml) previamente esterilizados, con medio de cultivo líquido a base de papa fresca-dextrosa. Los matraces con 50 ml de medio se inocularon con tres discos de micelio y PDA de 5 mm de diámetro de *Trichoderma* spp., de cultivos vigorosos de cinco días de edad. Los matraces se mantuvieron en agitación constante a 100 r.p.m. a 28 °C durante 12 días. El sobrenadante de crecimiento se filtró dos veces a vacío en papel Whatman no. 44; se filtró en membrana Millipore de 0.22 µm para obtener el extracto de cada cepa de *Trichoderma*.

El extracto obtenido se mantuvo a 4 °C hasta su utilización en la evaluación de los metabolitos secundarios no volátiles de *Trichoderma* contra *R. solani* (HSO56); para esto, en la superficie del medio de PDA en cajas Petri se agregó 200 µL de los metabolitos obtenidos de *Trichoderma* spp., en seguida en el centro de la caja Petri se depositó un disco de micelio de 5 mm de *R. solani*. Se incubó a 28 °C hasta que el testigo llenó la caja Petri (5 días), transcurrido este tiempo se determinó el porcentaje de inhibición de *R. solani* con la fórmula descrita en la prueba anterior.

Análisis de resultados

Se utilizó un diseño completamente al azar con 14 tratamientos y cuatro repeticiones. Los datos obtenidos de cada uno de los ensayos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) que permitió detectar diferencias entre tratamientos; para la comparación múltiple de medias se utilizó la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) y se analizó con el programa estadístico SAS. En el caso de los datos en porcentajes, antes de someterlos al ANOVA se les realizó la transformación angular de arcoseno $\sqrt{x+1}$ (Steel y Torrie, 1986) con el propósito de ajustar los datos.

RESULTADOS

El sobrecrecimiento de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre *R. solani* (TJ53) (traslape) varió de 6 a 3.32 cm (Tabla 1). El análisis de varianza mostró diferencia significativa ($P < 0.0001$) entre los tratamientos. De las mismas, 14 aislados de *Trichoderma* mostraron el máximo efecto antagónico según la escala de Bell et al. (1982), estas cepas se ubicaron en la clase 1; sin embargo, en la comparación de medias (Tabla 1), 14 de las 31 cepas se comportaron de manera similar.

Por otro lado, en el tratamiento de *R. solani* (ACH42) con las 31 cepas de *Trichoderma*, mostraron diferencia significativa entre los tratamientos ($P \leq 0.0001$). El sobrecrecimiento (traslape) de 31 cepas de *Trichoderma* sobre *R. solani* (ACH42) fluctuó de 6 a 2.97 cm (Tabla 1), de los cuales 6 aislados mostraron el máximo efecto antagónico y de estos, 5 pertenecen a *T. asperellum* (T2, T8, T16, T18 y 31) y uno a *T. hamatum* (T25). Es importante destacar que en los aislados de *Trichoderma* que cubrieron totalmente la superficie del medio en caja Petri se observó abundante esporulación.

Tabla 1. Traslape del crecimiento micelial de 31 aislados de *Trichoderma* sobre *R. solani* (cepas TJ53 (A) ACH42 (A) y HSO56 (A)) y clase de antagonismo y comparación de medias del porcentaje de inhibición de *R. solani* (HSO56 B) por compuestos volátiles producidos por 31 aislados de *Trichoderma*

J53 (A)			CH42 (A)			HSO56 (A)			HSO56 (B)
Cepa	Traslape (cm)	C	Cepa	Traslape (cm)	C	Cepa	Traslape (cm)	C	% de inhibición
T15	6.00 a*	1	T25	6.00 a	1	T1	5.27 a	1	0 d
T18	6.00 a	1	T8	5.42 ab	1	T4	5.07 ab	1	0 d
T16	6.00 a	1	T18	5.27 ab	1	T19	5.05 ab	1	21.88 abc
T14	6.00 a	1	T2	5.12 cb	1	T18	5.05 ab	1	37.5 abc
T30	6.00 a	1	T31	4.92 bcd	1	T17	5.00 ab	1	0 d
T4	5.70 ab	1	T16	4.90 becd	1	T16	4.90 ab	1	16.88 bcd
T8	5.67 ab	1	T17	4.80 becd	2	T25	4.82 bac	2	21.88 bcd
T17	5.65 ab	1	T3	4.72 fbecd	2	T3	4.80 bac	2	16.56 bcd
T1	5.65 ab	1	T10	4.50 fbecd	2	T8	4.775 bac	2	0 d
T2	5.65 ab	1	T19	4.47 fbecd	2	T31	4.57 bdac	2	0 d
T3	5.52 ab	1	T14	4.40 fgecdh	2	T30	4.50 bdac	2	37.50 abc
T19	5.50 ab	1	T1	4.35 fgecdh	2	T10	4.50 bdac	2	18.75 bcd
T31	5.35 ab	1	T15	4.15 fgecdh	2	T7	4.50 bdac	2	0 d
T10	5.12 b	1	T4	4.02 fgijh	2	T14	4.47 bdac	2	44.69 ab
T27	4.35 c	2	T20	4.00 fgijh	2	T2	4.47 bdac	2	39.06 ab
T11	4.22 dc	2	T30	3.82 gkijh	2	T26	4.47 bdac	2	51.56 a
T29	4.12 dce	2	T9	3.77 gkijh	2	T28	4.32 bdac	2	29.69 abc
T9	4.00 dfce	2	T7	3.65 gkijh	2	T15	4.30 bdac	2	9.38 cd
T12	3.92 gdfce	2	T11	3.62 lkj	2	T12	4.20 ebdac	2	21.88 bcd
T7	3.77 gdfce	2	T6	3.52 lkj	2	T27	4.17 ebdc	2	9.38 cd
T28	3.75 gdfce	2	T21	3.50 lkj	2	T5	4.07 ebdc	2	9.38 cd
T6	3.67gdfce	2	T22	3.50 lkj	2	T9	3.80 edfc	2	0 d
T20	3.65gdfce	2	T12	3.50 lkj	2	T13	3.67 edfc	2	51.56 a
T5	3.60gdfce	2	T5	3.42 lkj	2	T29	3.67 edfc	2	0 d
T23	3.57gdfce	2	T29	3.22 lk	2	T11	3.62 edfc	2	7.81 cd
T13	3.50 gfe	2	T13	3.17 lk	2	T20	3.60 edfc	2	21.88 bcd
T24	3.47 gfe	2	T27	3.15 lk	2	T24	3.52 edfc	2	0 d
T22	3.47 gfe	2	T28	3.10 lk	2	T6	3.50 edfc	2	0 d
T25	3.42 gf	2	T24	3.00 l	2	T21	3.15 ef	2	31.25 abc
T21	3.37 gf	2	T23	3.00 l	2	T22	3.12 ef	2	12.50 cd
T26	3.32 gf	2	T26	2.97 l	2	T23	2.97 f	2	26.56 abc

C= clase. *Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales entre sí ($P \leq 0.05$).

La evaluación de *R. solani* (HSO56) en el sobrecrecimiento (traslape) con las 31 cepas de *Trichoderma* fluctuó de 5.27 a 2.97 cm (Tabla 1), además el análisis de varianza mostró diferencia significativa entre los tratamientos ($P \leq 0.0001$). Según la escala de Bell et al. (1982), *T. asperellum* (T1, T4, T16, T17, T18) y T19 (sin identificar especie) fueron los más sobresalientes, ya que estos se ubicaron en la clase 1. Por otra parte, *R. solani* (HSO56) manifestó mayor crecimiento en comparación con las demás cepas (TJ53 A y ACH42 A), lo anterior se atribuye

a la resistencia que ha mostrado al fungicida de Pencycuron (Chávez et al., 2011).

Es importante mencionar que *Trichoderma* spp. presentaron capacidad antagónica; ya que cuatro cepas (T2, T8, T16, T31) coinciden en el sobrecrecimiento sobre *R. solani* (TJ53 A y ACH42 A) y tres mostraron sobrecrecimiento sobre el mismo patógeno (TJ53 y HSO56) (Figura 1); cabe destacar que *T. asperellum* (T18) mostró traslape con los tres aislados de *R. solani* (TJ53, ACH42 y HSO) (Tabla 1), además estos aislados de *Trichoderma* se ubicaron en la clase 1 de la escala de Bell et al. (1982).

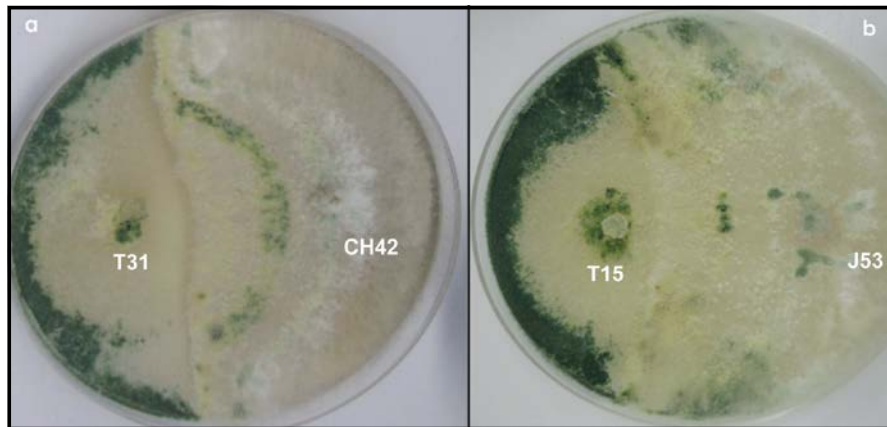


Figura 1. Efecto antagónico de *Trichoderma* (T31) contra CH42 a) y *Trichoderma* (T15) contra J53 b). Fotografías tomadas por Eduardo Osorio Hernández.

La inhibición del crecimiento micelial de *R. solani* (HSO56 A) inducida por los metabolitos volátiles producidos por las 31 cepas de *Trichoderma* osciló de 7.81 a 51.56% (Tabla 1), de las cuales 23 manifestaron cierta inhibición micelial sobre *R. solani*, además el patógeno mostró crecimiento irregular; sin embargo, no expresaron diferencia significativa ($P \leq 0.0009$) entre los tratamientos. Los metabolitos secundarios no volátiles producidos por *Trichoderma* spp. mostraron efecto inhibitorio contra *R. solani* (HSO56), la cual varió de 9.4 a 2.3% (Figura 2); se observó que *T. rossicum* (T1) y *T. asperellum* (T14, T16) expresaron mayor efecto inhibitorio ($P \leq 0.0001$) en comparación con las cepas T8 y T18 de *T. asperellum*; mientras que *T. hamatum* (T25) y otras cepas de *T. asperellum* (T2, T3, T4, T10, T17, T30 y T31) no mostraron actividad inhibitoria de *R. solani*, la cual indica que la especie no es determinante en la mayor o menor proporción y/o tipos de metabolitos secundarios no volátiles (Figura 2). Además de lo anterior, se observó un atípico y con poco crecimiento *R. solani* con todas las cepas evaluadas.

DISCUSIÓN

En los ensayos realizados en esta investigación se observó que no todas las cepas evaluadas de *Trichoderma* tienen la misma capacidad de inhibir el crecimiento micelial de *R. solani*. Es decir, la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. es variable debido a que cada especie puede tener diferente mecanismo de acción, además de capacidad de esporulación y crecimiento (Osorio Hernández et al., 2011). En el mismo sentido Küçük y Kivanç (2003) mencionaron que *T. harzianum* mostró

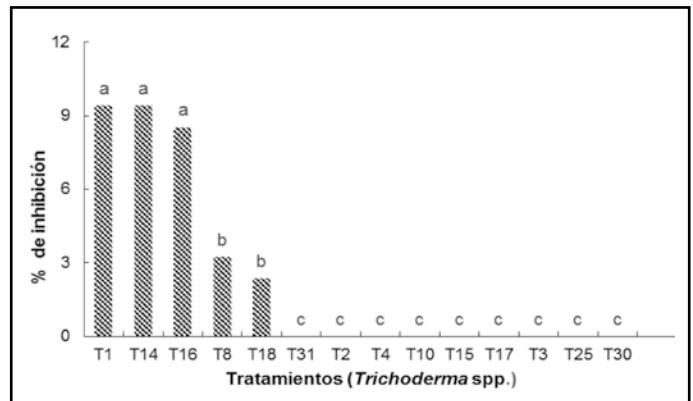


Figura 2. Medias del porcentaje de inhibición de *R. solani* (HSO56) por metabolitos secundarios volátiles de 14 aislados de *Trichoderma*. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales entre sí ($P \leq 0.05$).

una inhibición de 88% sobre *R. solani* en cultivos duales, además observaron que no todas las cepas de *Trichoderma* pertenecientes a la misma especie tienen la misma efectividad de inhibición; resultados que coinciden con esta investigación. Por otro lado, se observó que el tiempo de contacto entre *Trichoderma* spp. y *R. solani* (TJ53, ACH42, HSO56) fue de dos días, similar a lo obtenido por Michel Aceves et al. (2005) con *T. harzianum* contra *S. rolfsii*; pero que difiere para *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, debido a que fue de 5 días. Lo anterior también coincide a lo descrito por Reyes Rondón et al. (2007), quienes reportaron que *T. harzianum* presentó una elevada actividad antagónica e hiperparasítica contra *R. solani* y *Pyricularia grisea*, añaden que no todas las cepas de *Trichoderma* tienen el mismo nivel de competencia contra estos patógenos. Por otro lado, De Marco et al. (2004) y González et al.

(2012) evidenciaron que *Trichoderma* spp. producen diversas enzimas, tales como glucanasas, quitinasas, celulasas, proteasas y amilasas, que les confiere la capacidad para destruir la pared celular del fitopatógeno. Otros estudios indican que especies de *Trichoderma* producen sustancias volátiles; sin embargo, en este estudio no se encontró efecto inhibitorio de *R. solani* por compuestos volátiles, lo que difiere de lo reportado por Küçük y Kivanç (2003), quienes aseveran que *T. harzianum* mostró efecto inhibitorio por compuestos volátiles sobre *R. solani*, *R. cereales*, *Dreschlera sorokiniana*, *F. culmorum*, *F. moniliforme*, *Gaeumnomomyces graminis* var. *tritici* y *Sclerotium rolfii*. Otros estudios mencionan que *Trichoderma* produce compuestos volátiles que provocan un desarrollo micelial menos denso y reducen el tamaño de la colonia de *P. nicotianae* (Stefanova et al., 1999), lo anterior concuerda con lo obtenido en este estudio.

En la prueba de la actividad de metabolitos secundarios no volátiles de *Trichoderma* spp. contra *R. solani* se observó un crecimiento atípico y poco abundante de *R. solani* en todas las cepas evaluadas. Por otra parte, Küçük y Kivanç (2003), mencionaron que una de las siete cepas que ensayaron de *T. harzianum* mostró 100% de inhibición por sustancias no volátiles sobre *R. solani* y *S. rolfii*, así como que no todas las cepas de *Trichoderma* pertene-

cientes a la misma especie tienen el mismo porcentaje de inhibición, lo cual coincide con los resultados de esta investigación. LeLay et al. (2007) reportaron que *Trichoderma* spp. mostraron de 14 a 27% de inhibición en el crecimiento micelial de *Rosellinia necatrix*, mencionaron también que algunas cepas de *Trichoderma* estimularon el crecimiento del patógeno. Esto se atribuye a la poca concentración de metabolitos en el sobrenadante como gliotoxina, viridina, pacibasina, trichodermina, furanona, trichorziamina y 6-pentil-a-pirona.

CONCLUSIONES

T. asperellum (T18 y T16) fue la cepa que mostró efecto antagónico sobre *R. solani* (TJ53, ACH42 y HSO56) con los tres ensayos realizados en este estudio. *T. rossicum* (T1) demostró efecto inhibitorio en las pruebas de cultivos duales y metabolitos secundarios no volátiles contra *R. solani* (HSO56). Si se toma como base esta investigación, se sugiere realizar pruebas en invernadero y campo con *T. asperellum* (T18 y T16) y *T. rossicum* (T1) contra *R. solani*.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y a la empresa GreenCorp por el apoyo brindado para el desarrollo de esta investigación.

LITERATURA CITADA

- ANGUIZ, J. R. y MARTIN, C. Caracterización y patogenicidad de *Rhizoctonia solani* Kühn que afecta a la papa en tres zonas ecológicas del Perú. *Fitopatología*, 25, 16-22, 1990.
- BELL, D. K. et al. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72(4): 379-382, 1982.
- BIENKOWSKI, D. et al. A disease assay for *Rhizoctonia solani* on potato (*Solanum tuberosum*). *Insects and diseases on vegetables*. *New Zealand Plant Protection*, 63, 133-137, 2010.
- CARLING, D. et al. Hyphal anastomosis reactions, rDNA internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis Group-2 (AG-2) and AG-BI. *Phytopathology*, 92(1): 43-50, 2002.
- CHAVARRO, M. E. *Variabilidad genética y detección molecular de poblaciones del hongo Rhizoctonia solani en regiones colombianas productoras de papa*. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias-Profundización Fitopatología, Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia, 23-48, 2011.
- CHÁVEZ BARRAGÁN, J. R. et al. Susceptibilidad al Pencycuron, de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn colectados en ocho regiones paperas de México. *Revista Agraria-Nueva Epoca*, 8(3): 18-24, 2011.
- CHERIF, M. y BENHAMOU, N. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology*, 80(12): 1406-1414, 1990.
- DE MARCO, J. L. et al. Purification and characterization of an N-acetylglucosaminidase produced by a *Trichoderma harzianum* strain which controls *Crinipellis pernicioso*. *Applied Microbiology Biotechnology*, 64, 70-75, 2004.
- GONZÁLEZ, I. et al. Inducción de quitinasas y glucanasas en cepas de *Trichoderma* spp. promisorias como agentes para el control biológico. *Biotecnología Aplicada*, 29(1): 7-11, 2012.

- GUCHI, E. Disease management practice on potato (*Solanum tuberosum* L.) in Ethiopia. *World Journal of Agricultural Research*, 3(1): 34-42, 2015.
- HERNÁNDEZ CASTILLO, F. D. et al. Susceptibilidad a fungicidas de grupos de anastomosis del hongo *Rhizoctonia solani* Kühn colectados en zonas paperas de Chihuahua, México. *International Journal of Experimental Botany*, 74(1): 259-269, 2005.
- KANDULA, D. R. W. et al. *Trichoderma* species for biocontrol of soil-borne plant pathogens of pasture species. *Biocontrol Science and Technology*, 25(9): 1052-1069, 2015.
- KÜÇÜK, Ç. y KIVANÇ, M. Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. *Turkish Journal of Biology*, 27(4): 247-253, 2003.
- LELAY, Y. et al. Estudio de compatibilidad *in vitro* de aislados monoconídicos de *Trichoderma* sp. potenciales agentes de biocontrol de la podredumbre blanca del aguacate. *Actas VI Congreso Mundial del Aguacate*, 12-16 nov., Viña del Mar, Chile, 2007.
- MICHEL ACEVES, A. C. et al. Potencial antagonico *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *Lycopersici* (Sacc.) Zinder y Hansen y *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) *in vitro* en invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(3): 286-293, 2005.
- MONTERO TAVERA, V. et al. Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kühn) de Chile en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(7): 1043-1054, 2013.
- OSORIO HERNÁNDEZ, E. et al. Biocontrol of *Phytophthora parasitica* and *Fusarium oxysporum* by *Trichoderma* spp. in *Hibiscus sabdariffa* plants under field and greenhouse conditions. *African Journal of Agricultural Research*, 9(18): 1398-1345, 2014.
- OSORIO HERNÁNDEZ, E. et al. *In-vitro* behavior of *Trichoderma* spp. against *Phytophthora capsici* Leonian. *African Journal of Agricultural Research*, 6(19): 4594-4600, 2011.
- REYES IBARGUEN, D. E. y TORRES GONZÁLEZ, C. Caracterización de hongos antagonicos de tres humedales subsuperficiales utilizados para el tratamiento de aguas residuales domésticas. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*, 10, 21-30, 2011.
- REYES RONDÓN, T. et al. Efectividad *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai para el control de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Pyricularia grisea* Sacc. aislados en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). *Fitosanidad*, 11(1): 29-33, 2007.
- STEEL, R. G. D. y TORRIE, J. H. *Bioestadística: principios y procedimientos*. 2 ed. México: McGraw-Hill, 228, 1986.
- STEFANOVA, M. et al. Actividad metabólica de Cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 16(5): 509-516, 1999.
- TSPOR, L. et al. Biological control of Black scurf on potato under organic management. *Crop Protection*, 20(2): 145-150, 2001.