

---

# *Trichoderma*

## SU USO EN LA AGRICULTURA

**Maurício Conrado Meyer**

**Sérgio Miguel Mazaro**

**Juliano Cesar da Silva**

Editores Técnicos

Yelitza Coromoto Colmenárez

Carlos Luis Vásquez Freytez

Traductores



*Empresa Brasileña de Investigación Agropecuaria*  
*Embrapa Soja*  
*Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento*

# *Trichoderma*

## SU USO EN LA AGRICULTURA

*Maurício Conrado Meyer*

*Sérgio Miguel Mazaro*

*Juliano Cesar da Silva*

Editores Técnicos

*Yelitza Coromoto Colmenárez*

*Carlos Luis Vásquez Freytez*

Traducción

***Embrapa***  
*Brasília, DF*

*2022*

## **Ejemplares de esta publicación pueden ser adquiridos en:**

### **Embrapa Soja**

Rodovia Carlos João Strass, acceso Orlando Amaral, Distrito de Warta. Caixa Postal 231, CEP 86001-970, Londrina, PR  
Teléfono: 55 (43) 3371 6000  
www.embrapa.br/  
[www.embrapa.br/fale-conosco/sac/](http://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/)

### **Unidad responsable del contenido y edición**

Embrapa Soja

### **Comité Local de Publicaciones**

Presidente: *Abadi Antonio Balbinot Junior*

Secretaria Ejecutiva: *Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite*

Miembros: *Claudine Dinali Santos Seixas, Edson Hirose, Ivani de Oliveira Negrão Lopes, José de Barros França Neto, Liliane Márcia Mertz-Henning, Marco Antonio Nogueira, Mônica Juliani Zavaglia Pereira, Norman Neumaier*

Revisión técnica: *Yelitza Coromoto Colmenárez - CABI América Latina. Botucatu, SP; Carlos Luis Vásquez Freytez - Universidad Técnica de Ambato. Ecuador*

Normalización bibliográfica: *Ademir Benedito Alves de Lima, Victor Paulo Marques Simão, Valéria de Fátima Cardoso*

Proyecto gráfico y edición electrónica: *Luiz Cláudio de Melo*

Portada: *Vanessa Fuzinato Dall'Agnol*

1ª edición

Publicación digital (2022): PDF

Las opiniones expresadas en esta publicación son de exclusiva y completa responsabilidad de los autores, sin que necesariamente exprese el punto de vista de la Empresa Brasileña de Investigación Agropecuaria (Embrapa), adscrita al Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento.

### **Todos los derechos reservados**

La reproducción no autorizada de esta publicación, total o parcial, constituye una infracción de derechos de autor (Ley N° 9.610).

### **Datos de Catalogación Internacional en la Publicación (CIP)**

Embrapa Soja

---

*Trichoderma* : su uso en la agricultura / Maurício Conrado Meyer ... [et al.], editores técnicos ; traducción de Yelitza Coromoto Colmenárez y Carlos Luis Vásquez Freytez. — Brasília, DF : Embrapa, 2022. PDF (115 p.) : il. color.

ISBN 978-65-89957-14-0

1. Trichoderma. 2. Fungo. 3. Agricultura. I. Meyer, Maurício Conrado. II. Mazaro, Sergio Miguel. III. Silva, Juliano Cesar da. IV. Coromoto Colmenárez, Yelitza. V. Freytez, Carlos Luis Vásquez. VI. Título.



# AUTORES

---

## **Adriano Stephan Nascente**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Agronomía, investigador de Embrapa Arroz y Frijol, Santo Antônio de Goiás, GO

## **Aida Teresinha Santos Matsumura**

Ingeniera Agónoma. Doctora en Genética y Biología Molecular, profesora de la Universidad Federal de Rio Grande del Sur, Porto Alegre, RS

## **Akio Santos Matsumura**

Administrador, director de Planeación, Gestión y Ejecución de Proyectos del ICB Bioagritec Ltda., Porto Alegre, RS

## **Alaerson Maia Geraldine**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, profesor del Instituto Federal Goiano, Rio Verde, GO

## **Alan Bernard Oliveira de Sousa**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Ingeniería de Biosistemas, profesor de la Universidad Federal de Ceará, Fortaleza, CE

## **Alan Carlos Alves de Souza**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, profesor asistente del Centro Universitario de Anápolis, GO

## **Alfredo Ricieri Dias**

Ingeniero Agrónomo, magister en Agronomía, investigador de la Fundación Chapadão, Chapadão del Sur, MS

## **Álvaro Figueredo dos Santos**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, investigador de Embrapa Bosques, Colombo, PR

## **Amanda Naye Guimarães Tavares**

Biotechnóloga, Facultad de Ciencias de la Vida, becario en Embrapa Maíz y Sorgo, Sete Lagoas, MG

## **Ana Clara Pimenta Pereira**

Ingeniera Agrónoma, maestrante en Ciencias Agrarias de la Universidad Federal de San Juan del Rey, Sete Lagoas, MG

## **Ana Iraidy Santa Brígida**

Engenheira-química, doctora en Procesos Químicos y Bioquímicos, investigadora de Embrapa Agroindustria Tropical, Fortaleza, CE

## **Anna Cristina Lanna**

Licenciada em Química, doctora em Fisiología Vegetal, investigadora de Embrapa Arroz y Frijol, Santo Antônio de Goiás, GO

**Carine Rusin**

Tecnóloga en Horticultura, magister en Agronomía, candidata a doctora en la Universidad Estatal del Centro-Oeste, Guarapuava, PR

**Carlos Alberto Kenji Taniguchi**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Agronomía, investigador de Embrapa Agroindustria Tropical, Fortaleza, CE

**Carlos Mitinori Utiamada**

Ingeniero Agrónomo, investigador de TAGRO, Londrina, PR

**Cassiano Forner**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Protección de Plantas, investigador en Biotrop, Vinhedo, SP

**Celson Alexandre Weiler**

Ingeniero Agrónomo, magister en itotecnia, gerente industrial de Ballagro Agro Tecnología Ltda, Bom Jesus dos Perdões, SP

**Christiana de Fátima Bruce da Silva**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Fitopatología, investigadora de Embrapa Agroindustria Tropical, Fortaleza, CE

**Cintia Rodrigues Maruyama**

Biotechnóloga, magister en Biotecnología y Monitoramiento Ambiental, candidata a doctora en la Universidad Estatal Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Sorocaba, SP

**Cirano José Ulhoa**

Biólogo, doctor en Genética y Bioquímica de Microorganismos, profesor de la Universidad Federal de Goiás, Goiânia, GO

**Claudia Vieira Godoy**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Agronomía, investigadora de Embrapa Soja, Londrina, PR

**Cleusa Maria Mantovanello Lucon**

Bióloga, doctora en Microbiología, investigadora del Instituto Biológico, São Paulo, SP

**David de Souza Jaccoud Filho**

Biólogo, Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, profesor de la Universidad Estatal de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR

**Diouneia Lisiane Berlitz**

Bióloga, doctora en Biología, investigadora del ICB Bioagritec Ltda., Porto Alegre, RS

**Edna Dora Martins Newman Luz**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Fitopatología, Auditora Fiscal Federal Agropecuaria del Ministerio de Agricultura/Comisión Ejecutiva del Plan de Cultivo del Cacao, Itabuna, BA

**Edson Pereira Borges**

Ingeniero Agrónomo, magister en Producción y Gestión Agroindustrial, director ejecutivo de Desafíos Agro, Campo Grande, MS

**Eduardo Gilberto Dallago**

Ingeniero Agrónomo, investigador de CWR Investigación Agrícola, Palmeira, PR

**Eduardo Jun Fuzitani**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Producción Vegetal, investigador de la Agencia Paulista de Tecnología de Agronegocios (APTA Vale do Ribeira), Registro, SP

**Enrique Monte**

Farmacéutico, doctor en Farmacia, catedrático de Microbiología del Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Universidad de Salamanca, España

**Fabyano Alvares Cardoso Lopes**

Biólogo, doctor en Biología Microbiana, profesor de la Universidad Federal do Tocantins, Porto Nacional, TO

**Fernando Cezar Juliatti**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Agronomía, profesor de la Universidad Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG

**Fernando Hercos Valicente**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Entomología, investigador de Embrapa Maíz y Sorgo, Sete Lagoas, MG

**Flávia de Oliveira Marzarotto**

Ingeniera Agrónoma, investigadora de CWR Investigación Agrícola, Palmeira, PR

**Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, profesor de la Universidad Federal de Lavras, Lavras, MG

**Frederick Mendes Aguiar**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, postdoctorando en Embrapa Maíz y Sorgo, Sete Lagoas, MG

**Gabriel Moura Mascarín**

Ingeniero Agrónomo, PhD en Entomología, investigador de Embrapa Medio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Gisele Barata da Silva**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Agronomía, profesora de la Universidad Federal Rural de la Amazonia, Belém, PA

**Gustavo Adolfo Saavedra Pinto**

Químico, doctor en Procesos Químicos y Bioquímicos, investigador de Embrapa Agroindustria Tropical, Fortaleza, CE

**Gustavo Bezerra Andrade**

Ingeniero Agrónomo, magister en Producción Vegetal/Fitopatología, candidato a doctor en Agronomía/Fitosanidad en la UFG, Goiânia, GO

**Heloisa Thomazi Kleina**

Ingeniera Agrónoma, magister en Agronomía/Producción Vegetal, candidata a doctora en la Universidad Federal do Paraná, Curitiba, PR

**Henrique da Silva Silveira Duarte**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, profesor de la Universidad Federal del Paraná, Curitiba, PR

**Hercules Diniz Campos**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Agronomía, profesor de la Universidad de Rio Verde, Rio Verde, GO

**Ibraian Valério Boratto**

Ingeniero Agrónomo, investigador de CWR Investigación Agrícola, Palmeira, PR

**Jéssica Leticia Abreu Martins**

Ingeniera Agrónoma, magister en Entomología en la Universidad Federal de Viçosa, MG

**Jonatas Rafael Lacerda Rebouças**

Ingeniero Agrónomo, magister en Ciencia del Suelo, gerente de producción de Itauera Agropecuaria, Ribeira do Amparo, BA

**Jorge Teodoro de Souza**

Ingeniero Agrónomo, PhD en Fitopatología, profesor de la Universidad Federal de Lavras, Lavras, MG

**José Nunes Junior**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, investigador del Centro Tecnológico de Investigación Agropecuaria, Goiânia, GO

**Juliano Cesar da Silva**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Protección de Plantas, gerente de Ballagro Agro Tecnología Ltda, Bom Jesus dos Perdões, SP

**Júlio Alves Cardoso Filho**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Microbiología Agrícola, profesor de la Universidad Federal de Alagoas, Maceió, AL

**Júlio Carlos Pereira da Silva**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, post-doctorando en la Universidad Federal de Lavras, Lavras, MG

**Julio César Tonello**

Tecnólogo en Viticultura y Enología, especialista en Viticultura, productor rural, Bento Gonçalves, RS

**Laís Lacerda Brasil de Oliveira**

Biotecnologista, magister en Climatología Física, biotecnologista de la Universidad Federal de Ceará, Fortaleza, CE

**Leonardo Fernandes Fraceto**

Químico, doctor en Biología Funcional y Molecular, profesor de la Universidad Estatal Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Sorocaba, SP

**Lilian Simara Abreu Soares Costa**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Fitopatología, post-doctoranda de Embrapa Medio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Lucas Magalhães de Abreu**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Química, profesor de la Universidad Federal de Viçosa UFV, Viçosa, MG

**Luciana Celeste Carneiro**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Fitopatología, profesora de la Universidad Federal de Goiás, Jataí, GO

**Ludwig Heinrich Pfenning**

Biólogo, doctor en Fitopatología, profesor de la Universidad Federal de Lavras, Lavras, MG

**Luís Henrique Carregal Pereira da Silva**

Ingeniero Agrónomo, magister en Agronomía, investigador de AgroCarregal, Rio Verde, GO

**Marcela Cristiane Ferreira Rêgo**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Agronomía, becaria de la Universidad Federal Rural da Amazonia, Belém, PA

**Marcelo Henrique Soller Ramada**

Biólogo, doctor en Biología Molecular, profesor de la Universidad Católica de Brasília, Brasília, DF

**Márcia Eloísa da Silva**

Bióloga, doctora en Botánica, investigadora de ICB Bioagritec Ltda., Porto Alegre, RS

**Marcio Marcos Goussain Junior**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Agronomía, investigador de Assist Consultoría y Experimentación Agronómica, Campo Verde, MT

**Marcus André Kurtz Almança**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitotecnia/Fitosanidad, profesor del Instituto Federal de Educación, Ciencia y Tecnología de Rio Grande del Sur, Bento Gonçalves, RS

**Margarida Fumiko Ito**

Bióloga, doctora en Fitopatología, investigadora del Instituto Agronómico de Campinas, Campinas, SP

**Maria Luiza Marcico Publico de Castro**

Bióloga, magister en Entomología, directora técnica de Cesis Ltda., Brasília, DF

**Mariana Guilger-Casagrande**

Bióloga, magister en Biotecnología y Monitoreo Ambiental, candidata a doctora en la Universidad de Sorocaba, Sorocaba, SP

**Marina Guimarães Paci ico**

Ingeniera Agrónoma, magister en Fitopatología, candidata a doctora en la Universidad Estatal Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP

**Marta Cristina Corsi de Filippi**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Fitopatología, investigadora de Embrapa Arroz y Frijol, Santo Antônio de Goiás, GO

**Maurício Conrado Meyer**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Protección de Plantas, investigador de Embrapa Soja, Londrina, PR

**Mírian Rabelo de Faria**

Ingeniera Agrónoma, magister en Agronomía, candidata a doctora en la Universidad Estatal Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP

**Mônica Cagnin Martins**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Fitotecnia, investigadora de Círculo Verde Asesoría Agronómica e Investigación, Luís Eduardo Magalhães, BA

**Murillo Lobo Junior**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, investigador de Embrapa Arroz y Frijol, Santo Antônio de Goiás, GO

**Natalia Bilesky-José**

Ingeniera de Bioprocesos y Biotecnología, maestrante en la Universidad de Sorocaba, Sorocaba, SP

**Nean Locatelli Dalacosta**

Ingeniero Agrónomo, magister en Agronomía, Universidad Tecnológica Federal del Paraná, Pato Branco, PR

**Nelson Dias Suassuna**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, investigador de Embrapa Algodón, Santo Antônio de Goiás, GO

**Nilce Naomi Kobori**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Fitotecnia, consultora independiente, Campinas, SP

**Paula Steilmann**

Bióloga, magister en Fitopatología, Candidata a doctora en Producción Vegetal en la Universidad Tecnológica Federal del Paraná, Pato Branco, PR

**Rafaella Araújo Guimarães**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Fitopatología, post-doctoranda en la Universidad Federal de Lavras, Lavras, MG

**Renata de Lima**

Bióloga, doctora en Ciencias Médicas, profesora en la Universidad de Sorocaba, Sorocaba, SP

**Renato Vasconcelos Botelho**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Agronomía/Horticultura, profesor en la Universidad Estatal del Centro Oeste, Guarapuava, PR

**Robinson Martins Venancio**

Ingeniero Agrónomo, investigador de CWR Investigación Agrícola, Palmeira, PR

**Rosa Hermosa**

Farmacéutica, doctora en Farmacia, catedrática de Microbiología del Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Universidad de Salamanca, España

**Rosa Maria Valdebenito Sanhuesa**

Ingeniera Agrónoma, doctora, investigadora del Centro de Investigación Proterra, Vacaria, RS

**Sérgio Florentino Pascholati**

Biólogo, doctor en Fitopatología, profesor de la Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP

**Sérgio Miguel Mazaro**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Producción Vegetal, profesor de la Universidad Tecnológica Federal del Paraná, Dois Vizinhos, PR

**Silvânia Helena Furlan**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Fitopatología, investigadora del Instituto Biológico, Campinas, SP

**Suélen Mazon**

Ingeniera Agrónoma, magister en la Universidad Tecnológica Federal del Paraná, Pato Branco, PR

**Suenny Kelly Santos de França**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Fitopatología, profesora de la Universidad Federal Rural da Amazonia, Capanema, PA

**Tariane Alves Machado-Rosa**

Ingeniera Agrónoma, magister en Fitosanidad, Universidad Federal de Goiás, Goiânia, GO

**Thatyane Pereira de Sousa**

Ingeniera Agrónoma, doctora em Agronomía, profesora de la Facultad Vale do Aço, Açailândia, MA

**Thiago de Oliveira Vargas**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitotecnia, profesor de la Universidad Tecnológica Federal del Paraná, Pato Branco, PR

**Ubiraci Gomes de Paula Lana**

Químico, doctor en Genética, analista de Embrapa Maíz y Sorgo, Sete Lagoas, MG

**Valter Cruz-Magalhães**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Genética y Biología Molecular, post-doctorando en la Universidad Federal de Lavras, Lavras, MG

**Vanessa Nathalie Modesto Boratto**

Ingeniera Agrónoma, investigadora de CWR Investigación Agrícola, Palmeira, PR

**Victor Hugo Moura de Souza**

Biólogo, magister en Fitopatología, candidato a doctor en la Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP

**Vinicius Adão Bartnicki**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Producción Vegetal, investigador del Centro de Investigación Proterra, Vacaria, RS

**Wagner Bettiol**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Fitopatología, investigador de Embrapa Medio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Wilson Story Venancio**

Ingeniero Agrónomo, doctor en Protección de Plantas, investigador de CWR Investigación Agrícola, Palmeira, PR; profesor de la Universidad Estatal de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR

**Zayame Vegette Pinto**

Ingeniera Agrónoma, doctora en Protección de Plantas, investigadora de Ballagro Agro Tecnología Ltda, Bom Jesus dos Perdões, SP



# PRESENTACIÓN

---

La necesidad de incrementar la producción de alimentos, bioenergía y textiles a nivel mundial ha provocado la necesidad de grandes inversiones en el desarrollo tecnológico e innovación durante las últimas décadas, acelerando la producción de diversos cultivos, con la optimización de las áreas agrocultivables.

Aun así, el aumento de la producción agrícola no siempre va de la mano de la adopción de buenas prácticas de manejo fitosanitario, lo que ha provocado algunos desequilibrios y el agravamiento de algunas enfermedades, haciendo que su control sea difícil y costoso.

En la búsqueda de la integración de varias opciones de medidas de manejo de enfermedades de plantas, el control biológico ha ganado espacio y se ha ido consolidando en el mercado agrícola, con el registro y lanzamiento de varios productos en los últimos años.

En Brasil, uno de los principales agentes de control biológico es el hongo *Trichoderma* spp., debido a su amplia adaptación a las condiciones ambientales del país y a la gran variabilidad y especificidad del control en determinados patosistemas.

En Brasil se han generado muchos datos de investigación sobre el uso de *Trichoderma* spp. en la agricultura, y nos complace presentar este libro, que recoge gran parte de esta información.

Así, Embrapa espera seguir contribuyendo para el avance del conocimiento y la generación de tecnologías en esta área, con el objetivo de lograr el manejo de las enfermedades de plantas con mayor sustentabilidad.

**Alexandre Lima Nepomuceno**  
***Jefe General***  
**Embrapa Soja**

La agricultura brasileña cubre gran parte de la producción mundial de alimentos, textiles y energías renovables, y representa una de las pocas opciones que permite una producción económica y ambientalmente sostenible. Gracias al desarrollo tecnológico y al emprendimiento de los productores rurales, Brasil ha aumentado significativamente la productividad en la agricultura, optimizando y preservando el uso de la tierra.

Sin embargo, en las últimas décadas, la rápida expansión de la agricultura, especialmente en la región de Cerrados, ha provocado algunos desequilibrios, principalmente debido al monocultivo, lo que resultó en el agravamiento de los problemas fitosanitarios. Si no se adoptan medidas de control, la sostenibilidad de los sistemas productivos puede verse comprometida.

El manejo integrado de las enfermedades de las plantas es fundamental para el mantenimiento de la estabilidad de la producción, cuya implementación ocurre a través de la adopción conjunta de varias medidas de control, como el uso de cultivares resistentes, semillas con alta calidad sanitaria y fisiológica, la rotación de cultivos con especies no hospedantes, prácticas culturales que desfavorezcan al patógeno, uso de control químico y biológico, entre otras.

En este contexto, la adopción del control biológico de enfermedades de plantas ha crecido en las últimas décadas en el país, como resultado de inversiones en investigación e innovación por parte de diferentes instituciones públicas y privadas. En los últimos ciclos de cultivo, su adopción ha ido creciendo en torno al 20% anual, como consecuencia de una mayor conciencia sobre la necesidad de diversificar las medidas de control, un posicionamiento técnico más asertivo y la mejora de la calidad de los productos puestos a disposición a nivel del mercado.

La información técnica sobre el uso correcto de los productos a base de agentes de biocontrol se encontraba dispersa en diferentes medios de difusión, muchas veces desconectados, lo que dificultaba su acceso e interpretación para la definición de estrategias de control. Así, surgió la idea de agrupar en un trabajo, información sobre el hongo *Trichoderma* spp., uno de los principales microorganismos utilizados como antagonista de agentes fitopatógenos.

Este trabajo fue concebido en el 50º Congreso Brasileño de Fitopatología, realizado en Uberlândia, MG, en agosto de 2017, cuando los editores consultaron a varios fitopatólogos sobre la viabilidad y alcance de un libro que abordase los usos de *Trichoderma* spp. en la agricultura. La receptividad fue unánime y emocionante por parte de los colegas, que iniciaron el formato del libro, subdividido en cuatro partes: escenarios, taxonomía y fisiología de las interacciones entre plantas y patógenos, calidad de los productos formulados y aplicación en cultivos específicos.

Obviamente este trabajo no agota todos los temas relacionados con este importante agente de biocontrol, pero esperamos sinceramente que sirva de incentivo para la continuidad de estudios más profundos, diversificados e innovadores, que sin duda traerán un gran aporte a la agricultura.

¡Buena lectura!

***Los editores***



## PARTE I - ESCENARIOS

Capítulo 1	
Uso actual y perspectivas de <i>Trichoderma</i> en el Brasil.....	21
Capítulo 2	
Productos comerciales a base de <i>Trichoderma</i> .....	45

## PARTE II - TAXONOMÍA Y FISIOLOGÍA

Capítulo 3	
El género <i>Trichoderma</i> .....	165
Capítulo 4	
<i>Trichoderma</i> y sus mecanismos de acción para el control de enfermedades de plantas .....	183
Capítulo 5	
<i>Trichoderma</i> : metabolitos secundarios.....	203
Capítulo 6	
<i>Trichoderma</i> : interacciones y estrategias.....	223
Capítulo 7	
Inducción de la resistencia por <i>Trichoderma</i> .....	239

## PARTE III - CALIDAD

Capítulo 8	
Producción industrial de <i>Trichoderma</i> .....	259
Capítulo 9	
Control de calidad de los productos biológicos hechos a base de <i>Trichoderma</i> .....	281
Capítulo 10	
Uso de micro y nanotecnología con <i>Trichoderma</i> .....	303
Capítulo 11	
Riesgos de la producción artesanal de microorganismos.....	321
Capítulo 12	
Compatibilidad de los productos a base de <i>Trichoderma</i> con fungicidas utilizados en el tratamiento de semillas .....	329

## PARTE IV - APLICACIONES

Capítulo 13	
Evaluación en campo del efecto de <i>Trichoderma</i> sobre la pudrición blanca .....	345
Capítulo 14	
Uso de <i>Trichoderma</i> en el cultivo de arroz.....	355
Capítulo 15	
Uso de <i>Trichoderma</i> en el cultivo de algodón .....	369
Capítulo 16	
Uso de <i>Trichoderma</i> en el cultivo de papa .....	389
Capítulo 17	
Uso de <i>Trichoderma</i> en el cultivo de frijol común .....	401
Capítulo 18	
Uso de <i>Trichoderma</i> en cereales.....	415
Capítulo 19	
Pudrición blanca en soja - ensayos cooperativos.....	425
Capítulo 20	
Uso de <i>Trichoderma</i> en el cultivo de banano.....	441
Capítulo 21	
Uso de <i>Trichoderma</i> en el cultivo del cacao .....	453
Capítulo 22	
Uso de <i>Trichoderma</i> en hortalizas.....	463
Capítulo 23	
Uso de <i>Trichoderma</i> en el cultivo de manzana .....	479
Capítulo 24	
Uso de <i>Trichoderma</i> en el cultivo de melón.....	489
Capítulo 25	
Uso de <i>Trichoderma</i> en el cultivo de fresa .....	503
Capítulo 26	
Uso de <i>Trichoderma</i> en el cultivo de uva .....	517
Capítulo 27	
Uso de <i>Trichoderma</i> en cultivos forestales .....	531

A vertical strip on the left side of the page shows a microscopic view of biological cells, likely from a tissue section. The cells are stained, showing various structures like nuclei and membranes. The color palette is primarily green and blue.

# PARTE I ESCENARIOS



# Uso actual y perspectivas de *Trichoderma* en el Brasil

*Wagner Bettiol*

*Juliano Cesar da Silva*

*Maria Luiza Marcico Publio de Castro*

## Conceptos

A lo largo de los capítulos del libro se utilizan varios términos relacionados con el control biológico de enfermedades de las plantas. Por lo tanto, es extremadamente importante que estos términos sean conceptualizados. En este libro se utilizará el control biológico, que está dedicado exclusivamente al género más importante de hongos considerados como agentes de control biológico de enfermedades de plantas, se define como el control de un organismo por otro organismo o el control de un agente causal de una enfermedad de planta por un microorganismo antagonista. Sin embargo, el concepto de control biológico más aceptado por la comunidad es ... “la reducción de la suma de inóculo o de las actividades que determinan la enfermedad, causada por un patógeno, realizada por uno o más organismos distintos al hombre” (Cook; Baker, 1983). Para estos autores, las actividades determinantes de las enfermedades incluyen crecimiento, infectividad, virulencia, agresividad y otras cualidades del patógeno o procesos que determinan la infección, el desarrollo de síntomas y la reproducción. Los organismos incluyen: individuos o poblaciones avirulentas, hipovirulentas dentro de especies patógenas; plantas hospedantes manipuladas genéticamente o mediante prácticas culturales; microorganismos, para una mayor o más eficaz resistencia frente al patógeno; y antagonistas de patógenos (definidos como microorganismos que interfieren en la supervivencia o las actividades determinantes de enfermedades causadas por patógenos). Así, según Cook y Baker (1983), en este concepto, el control biológico puede ir acompañado de prácticas culturales para crear un ambiente favorable para los antagonistas y la resistencia



de la planta hospedante o ambos; fitomejoramiento para aumentar la resistencia al patógeno o para adaptarse mejor a las actividades de antagonistas; introducción de antagonistas, aislados no patogénicos y otros organismos o agentes benéficos, y otras prácticas culturales.

Otro término que se utilizará constantemente en los capítulos es biopesticidas. Según Bettiol (2011), los biopesticidas son organismos vivos (hongos, bacterias, protozoos, estreptococos y virus), animales microscópicos (nematodos) y macroorganismos (depredadores y parasitoides, insectos y ácaros) o productos naturales derivados de estos organismos que se utilizan para proteger las plantas contra problemas fitosanitarios. Así, el término biofungicida indica los organismos como agentes de biocontrol utilizados para controlar las enfermedades de las plantas.

Este capítulo también discutirá la evolución de la legislación brasileña para el registro de productos de baja toxicidad y peligrosidad, que incluyen productos que contienen agentes de biocontrol.

## **Mercado**

El mercado mundial de biopesticidas fue de USD\$ 6,387 billones en 2017 y se estima que alcance los USD\$ 16,7 billones para 2024, con una tasa de crecimiento anual - CAGR (*compound annual growth rate*) de 15% (Markets & Markets, 2019). Sin embargo, la previsión en el 2012 era que el mercado alcanzaría los USD\$ 3,2 billones para el 2017. Estos datos indican el fuerte crecimiento de este método de control en el mundo. Por otro lado, la CAGR para el mercado de plaguicidas químicos se pronostica en 2,3% al año hasta 2023, y se espera que alcance un valor de 55,6 billones de dólares.

En el 2018, la industria brasileña de control biológico registró una de las tasas de crecimiento de ventas más altas de su historia. El grupo de empresas miembros de la Asociación Brasileña de Empresas de Control Biológico (ABCBio), que representa el 70% del mercado, cerró el año con ventas totales de aproximadamente R\$ 464,5 millones, resultando en una expansión del 77% (Brasil, 2019), referido a la facturación de R\$ 262,4 millones obtenidos en 2017. Los datos fueron obtenidos en una encuesta hecha por el Departamento de Estadística de la entidad. Estos datos demuestran una mayor tendencia de adopción de la tecnología por parte del agricultor. Entre los biopesticidas, el mercado brasileño de biofungicidas aumentó 148% en 2018, en comparación con el año anterior. Estos datos demuestran el interés del agricultor en el uso de la tecnología. Actualmente, los biofungicidas registrados en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento (Mapa) están hechos a base de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma koningiopsis* y *Trichoderma stromaticum* (Figura 1), además de los biopesticidas hechos a base de *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus methylotrophicus*.

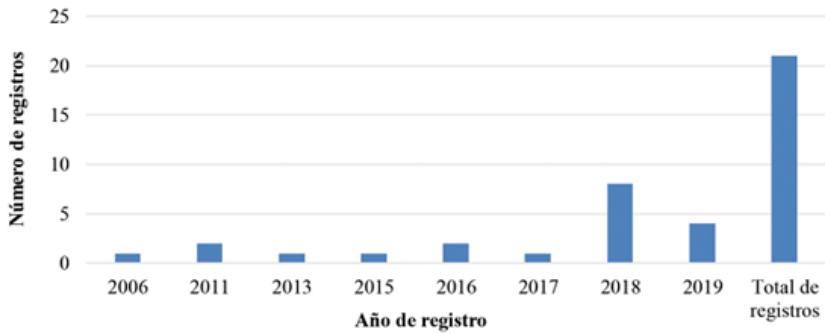
A pesar de los avances de los últimos años, los bioplaguicidas representan menos del 20% de los plaguicidas registrados en Brasil en 2019 (Agrofit, 2003c). En agosto de 2011 solo había 27 productos a base de agentes de biocontrol registrados en Brasil, a mediados de 2018 este número llegó a 137 y subió a 200 en marzo de 2019 (Agrofit, 2003c). Estos datos indican la importancia de los bioplaguicidas en la agroindustria brasileña.

*Trichoderma* cambió por completo el escenario del control biológico de las enfermedades de las plantas en Brasil. El primer producto a base de *Trichoderma* de uso en Brasil estuvo disponible en 1987. El producto contenía granos de sorgo colonizados por *Trichoderma viride* para el control de *Phytophthora cactorum*, siendo elaborado por Embrapa Clima Templado. Sin embargo, el aumento en la producción y uso de *Trichoderma* ocurrió después del año 2000. El primer registro de un producto comercial basado en *Trichoderma* fue en 2006 (Bettiol et al., 2014). En 2008, se aplicaron productos a base de *Trichoderma* en aproximadamente 600.000 ha de soja para controlar el moho blanco causado por *Sclerotinia sclerotiorum*. La importancia de los productos a base de *Trichoderma* para Brasil, puede ser evaluada por el área tratada en 2010, la cual fue mayor a los 1,2 millones de ha, habiendo alcanzado más de 5 millones de ha en 2015.

Analizando los biofungicidas fabricados a base de *Trichoderma*, en 2019, el número total de productos registrados en el Min. Agric. - Mapa, en función de las especies de este agente de biocontrol, fue de 21 (Figura 1). De estos, 66% de los productos registrados están hechos a base de *Trichoderma harzianum*, 24% a base de *Trichoderma asperellum*, 5% a base de *Trichoderma koningiopsis* y 5% a base de *Trichoderma stromaticum* (Figura 2).

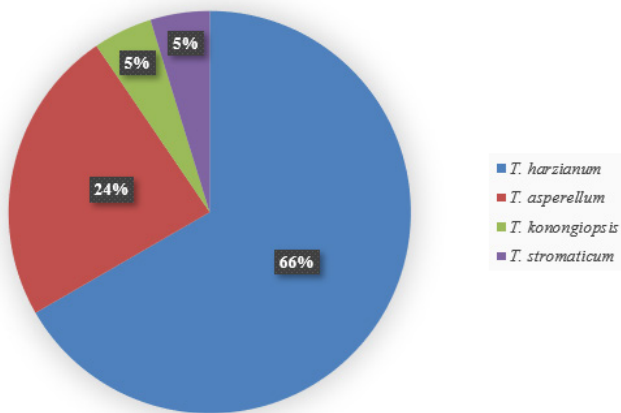
Los biofungicidas a base de *Trichoderma* se utilizan en Brasil para los cultivos de soja, algodón, maíz, frijol, fresa, cítricos, caña de azúcar, café, tabaco, hortalizas, ornamentales, frutas y especies forestales. En muchas situaciones, los productos a base de *Trichoderma* se utilizan para promover el crecimiento. Incluso hay un producto registrado en Brasil para este propósito (Tabla 1).

Otro aspecto fundamental que ha influido en el crecimiento del mercado de control biológico en Brasil fue el avance de la legislación. Sin los recientes avances coordinados entre Mapa, Ibama y Anvisa, las empresas tendrían dificultades para obtener el registro de productos. Así, el siguiente ítem de este capítulo discute la evolución de la legislación brasileña para el registro de productos de baja toxicidad y peligrosidad, que incluyen agentes de biocontrol.



**Figura 1.** Número de biofungicidas a base de *Trichoderma* spp. registrado en Brasil.

Fuente: Agrofit (2003c).



**Figura 2.** Biofungicidas registrados a base de especies de *Trichoderma* en Brasil en porcentaje.

Fuente: Agrofit (2003c).

**Tabla 1.** Productos biológicos formulados a base de *Trichoderma* spp. y registrados en el mercado brasileño<sup>1</sup>

Microorganismo antagonista	Producto (empresa) y año de registro	Concentración declarada-producto comercial	Formulación	Organismo Objetivo
<i>Trichoderma asperellum</i>	Quality (Laboratorio de Biocontrol Farroupilha Ltda)/2011	1,5 x10 <sup>10</sup> UFC/g	Granulado dispersable	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Organic WP (Laboratorio de Biocontrol Farroupilha Ltda)/2016	1,0 x10 <sup>10</sup> UFC/g	Polvo mojable	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> y <i>Rhizoctonia solani</i>
	Trichodermax EC (Novozymes)/2011	1,5 x10 <sup>9</sup> conidios viables/mL	Concentrado emulsionable	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>glycines</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Tricho-Turbo (Biovalens)/2018	1,0 x10 <sup>10</sup> conidios viables/mL	Concentrado emulsionable	<i>Rhizoctonia solani</i>
	Bio-Hulk (Biovalens)/2019	1,5 x10 <sup>10</sup> conidios viables/mL	Concentrado emulsionable	<i>Rhizoctonia solani</i>
	Ecotrich WP (Ballagro)/2013	1,0 x10 <sup>10</sup> UFC/g	Polvo mojable	<i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Predatox (Ballagro)/2011	2,0 x10 <sup>8</sup> UFC/g	Suspensión concentrada	<i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Majestic (Ballagro)/2018	1,0 x10 <sup>10</sup> UFC/g	Polvo mojable	<i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Trichodermil SC(Koppert)/2006	2,0 x10 <sup>9</sup> conidios viables/mL	Suspensión concentrada	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> , <i>Pratylenchus zeae</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Thielaviopsis paradoxa</i>
	Trichodermil DS (Koppert)/2018	1,0 x10 <sup>8</sup> UFC/g	Granulado dispersable	<i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
<i>Trichoderma harzianum</i>	Trichodermil Super SCi306 (Koppert)/2019	2,0 x10 <sup>9</sup> UFC/g	Suspensión concentrada	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> , <i>Pratylenchus zeae</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Thielaviopsis paradoxa</i>
	Octane (Koppert)/2018	2,0 x10 <sup>9</sup> conidios viables/mL	Suspensión concentrada	<i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Daytona (Koppert)/2018	2,0 x10 <sup>9</sup> conidios viables/mL	Suspensión concentrada	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> , <i>Pratylenchus zeae</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Thielaviopsis paradoxa</i>
	Triaction (Koppert)/2018	1,0 x10 <sup>8</sup> UFC/g	Granulado dispersable	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Triatum WG (Koppert)/2017	1,0 x10 <sup>8</sup> UFC/g	Granulado dispersable	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Stimucontrol (Simbiose)/2016	1,0 x10 <sup>9</sup> UFC/g	Suspensión concentrada	<i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Tryconyd FR 25 (TZ Biotech)/2019	1,0 x10 <sup>8</sup> UFC/g	Gel emulsionable	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Rizoderma (Ballagro)/2019	1,0 x10 <sup>10</sup> UFC/g	Polvo mojable	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Rhizoctonia solani</i>
	Bio Zenon (Simbiose)/2019	1,0 x10 <sup>9</sup> UFC/g	Suspensión concentrada	<i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Natucontrol (Nufarm)/2019	1,0 x10 <sup>7</sup> UFC/g	Polvo mojable	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> y <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i>

Microorganismo antagonista	Producto (empresa) y año de registro	Concentración declarada-producto comercial	Formulación	Organismo Objetivo
<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus amyloliquefasciens</i>	Shocker (Agrivalle)/2018	1,0 x10 <sup>7</sup> UFC/g 1,0 x10 <sup>7</sup> UFC/g	Polvo mojable	<i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	Diamond (Farroupilha)/2018	3,0 x10 <sup>9</sup> UFC/g	Granulado dispersable	<i>Heterodera glycines</i> , <i>Meloidogyne</i> y <i>Pratylenchus brachyurus</i>
<i>Trichoderma stromaticum</i>	Tricovab (Cepiac)/2012	2,3 x10 esporas/g	Polvo mojable	<i>Monilophthora perniciosa</i>

<sup>1</sup>Estos son los bioproductos registrados, sin embargo, hasta la fecha, otros productos se comercializan sin registro. En el mercado brasileño existe un bioproducto a base de *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* y *T. koningiopsis* registrados como inoculante (ICB Nutrisolo, de la empresa ICB). <sup>2</sup> UFC: unidades formadoras de colonias.

Fuente: Agrofitec (2003c)

## Evolución de la legislación brasileña para el registro de productos de baja toxicidad y peligrosidad

El registro de un producto es la forma legal para su comercialización en el país, ya sea a través de la formulación/fabricación de sus componentes y/o su importación/exportación. El objetivo del registro, entre otras cosas, es garantizar la seguridad de la población y el ambiente, además de garantizar los estándares de calidad y eficiencia del producto.

Brasil tiene una de las legislaciones más avanzadas para el registro de productos destinados a la agricultura y a los ambientes urbanos brasileños en el mundo. Vinculadas a estas leyes existen otras que también deben ser observadas por los empresarios que buscan la legalización de sus productos. Por paradójico que sea, en Brasil, los Productos de Baja Toxicidad y Peligrosidad, como, por ejemplo, los productos biológicos utilizados en el control de plagas y enfermedades agrícolas, según su marco, están regulados por la Ley N° 7.802/89 (Brasil, 1989), la Ley de Agrotóxicos y Afines. Cabe señalar que no es el origen de los productos lo que los clasifica en este contexto, sino la finalidad a la que se destinan estos productos, es decir, controlar seres vivos que sean considerados nocivos (Castro; Oliveira-Filho, 2006).

Según la reglamentación, un producto se define como plaguicida o afín, cuando se trata de un producto o agente proveniente “de procesos físicos, químicos o biológicos, destinados a ser utilizados en los sectores productivos, en el almacenamiento y procesamiento de productos agrícolas, en pastos, en la protección de bosques, nativos o establecidos, y otros ecosistemas y también en ambientes urbanos, acuáticos e industriales, cuya finalidad sea la alteración de la composición de la flora o fauna, con el fin de preservarlos de la acción de seres vivos considerados nocivos”. En este contexto, los agentes de control biológico (Brasil, 2006a), los agentes de control microbiológico (Brasil, 2006b), los semiquímicos (Brasil, 2006c) y los bioquímicos (Brasil, 2006d) están incluidos en la legislación.

Previo a la Ley de Plaguicidas y Afines, la legislación que regulaba el sector era bastante antigua, basada en el Decreto N° 24.114/34 (Brasil, 1934). En ese momento, el registro de plaguicidas era responsabilidad exclusiva del Ministerio de Agricultura. La Ley N° 7.802/89 (Brasil, 1989) trajo una serie de innovaciones y beneficios que garantizaban la seguridad de la población y el ambiente, asegurando estándares de calidad y eficiencia, además del uso seguro de plaguicidas en el país, involucrando conjuntamente a tres entes federales como órganos reguladores: el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento (Mapa), la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (Anvisa, vinculada al Ministerio de Salud) y el Instituto Brasileño de Medio Ambiente y Recursos Naturales Renovables (Ibama, vinculado al Ministerio del Medio Ambiente). Todos los detalles de los requisitos necesarios para el registro de plaguicidas y productos relacionados están contenidos en el Decreto 4.074/02 (Brasil, 2002), el cual, además de mencionar la necesidad de publicar otros instrumentos normativos legales específicos existentes para cada producto considerado de Baja Toxicidad y Peligrosidad, plantea la priorización y diferenciación de esta categoría de productos.

Un factor que dificulta la priorización y evaluación diferenciada de productos considerados de Baja Toxicidad y Peligrosidad, señalado en el Decreto N° 4.074/02 (Brasil, 2002), es la falta de una norma que defina el término “Baja Toxicidad y Peligrosidad”. Este aspecto es sumamente importante, pues sin una adecuada definición, cada uno de los entes federales reguladores puede interpretar a su manera, cuáles productos, analizados caso por caso, deben o no recibir el procedimiento priorizado, establecido en el Decreto. Cabe mencionar que la evaluación de estos productos no sigue un patrón, tal como ocurre con los plaguicidas químicos convencionales, ya que presentan peculiaridades que los colocan en una situación particular y, muchas veces, inédita para el evaluador (Castro y Oliveira-Filho, 2006). Esta condición inédita se viene dando con frecuencia porque, con el avance de la ciencia, constantemente aparecen en el mercado nuevos productos denominados “alternativos”.

Antes de la publicación de normas específicas que contemplaban los requisitos técnicos exigidos para el registro, diferenciando productos de baja toxicidad y peligrosidad de los plaguicidas convencionales, todo el proceso de evaluación y registro estaba enfocado exclusivamente en la evaluación de sustancias químicas. Los otros productos incluidos dentro de la misma Ley, los cuales son totalmente diferentes, también seguían los mismos protocolos. Justo después de la publicación de la Ordenanza Normativa Ibama No. 131/97 (Ibama, 1997), se comenzaron a aplicar diferentes requisitos para la regulación de productos basados en agentes de control microbiológico, diferenciándolos de los plaguicidas químicos convencionales, aplicándoles el sistema de fases para desarrollar su evaluación.

Este primer avance en la reglamentación de los productos plaguicidas, además de reducir el número de estudios obligatorios para el registro de productos considerados de baja toxicidad

y peligrosidad, lo que minimizaba los costos en relación con la presentación de datos, tenía como objetivo optimizar el tiempo de evaluación de las solicitudes de registro de productos con esta característica.

Con la publicación de la Ordenanza N° 131/97 (Ibama, 1997) se enfrentó un problema con la armonización de los requisitos necesarios para la elaboración de los procesos de registro de Productos Microbiológicos, ya que la Ley de Agrotóxicos y Afines estableció la competencia conjunta entre Anvisa, Mapa e Ibama para su evaluación y registro y solo Ibama presentó este documento legal detallando los parámetros técnicos requeridos para una solicitud de registro. En este sentido, Anvisa, entendiéndolo también que su normativa existente para Plaguicidas y Productos Afines relacionados con la salud humana, como la Ordenanza N° 03/92 (Brasil, 1992), no trataba específicamente de Productos Microbiológicos, publicó la Resolución del Directorio Colegiado (RDC) N° 195/02 (Anvisa, 2002) con el fin de diferenciar y priorizar el registro de estos productos en el contexto de plaguicidas y afines.

La armonización de normas y requisitos técnicos para el Registro de Productos Biológicos, con base en la Ley de Agroquímicos y Afines, se completó con la publicación de las Instrucciones Normativas Conjuntas, mencionadas por el Decreto N° 4.074/02, al establecer la priorización para la evaluación diferenciada de esta categoría de producto. Instrucciones Normativas Conjuntas 3/06 (Brasil, 2006b), que trata de la regulación de Productos Microbiológicos, abarcando todos los aspectos relacionados con las evaluaciones de Anvisa, Ibama y Mapa, es el principal ejemplo de este tema.

Los instrumentos legales, luego de ser armonizados entre los organismos gubernamentales responsables del registro de Productos considerados de baja toxicidad y peligrosidad, insertados en la Ley de Agroquímicos y afines, mantuvieron la división en fases, de los requisitos técnicos obligatorios a ser presentados durante el proceso de registro sugerido originalmente por la Ordenanza Normativa Ibama N° 131/97 (Ibama, 1997), específica para Productos Microbiológicos. Con el mantenimiento de este sistema, el Gobierno Federal evidenció el intento de reducir algunos sesgos existentes en la legislación, aumentando la posibilidad de registrar estos productos en el mercado brasileño (Rangel, 2006). Esta evaluación se realiza con base en el entendimiento de que cuanto menor sea la toxicidad de los productos utilizados para el control de plagas y enfermedades, mayor será la seguridad de la población y el ambiente. Considerando la posible baja toxicidad de los productos, el alcance del análisis se divide en tres fases diferenciadas (I, II y III) (Tablas 2 a 8) y tiene como objetivo exigir lo realmente necesario para probar la toxicidad de estos productos, como el caso de los productos microbiológicos. La fase I consta de una serie de pruebas breves. Si no se observan efectos adversos en esta primera fase, no es necesario realizar las otras pruebas en las Fases II y III. La Fase II evalúa una situación particular, en el caso que se

encuentran signos de toxicidad o efectos adversos en la Fase I. Cuando en los resultados de los estudios de Fase II se observa algún tipo de daño, deben realizarse directamente los estudios de Fase III. Otro ejemplo importante que demuestra avances en la diferenciación entre los Productos de Baja Toxicidad y Peligrosidad y los considerados Plaguicidas convencionales son los requisitos exigidos por la Instrucción Normativa Conjunta N° 25/05 (Brasil, 2005), que trata del Registro Especial Temporal (RET), un mecanismo creado por el gobierno, para estar informado sobre las investigaciones y experimentos que se están realizando en Brasil en el área de protección vegetal. Para recibir el Certificado RET, es necesario enviar información para que el gobierno conozca la eficacia y la investigación de toxicidad del producto. En el caso de Productos Microbiológicos, entre otros, considerados diferentes a los de Plaguicidas convencionales, no es necesario pagar la Tasa RET, establecida por Ibama, que puede variar desde R\$ 1.443,54 (mil cuatrocientos cuarenta y tres reales con cincuenta y cuatro centavos) a R\$ 5.779,59 (cinco mil setecientos setenta y nueve reales con cincuenta y nueve centavos). Hasta este momento, el cambio se ha producido solo en Ibama, ya que las tarifas que cobra Anvisa, dependiendo del tamaño de la Compañía, siguen siendo las mismas. Otro ejemplo de la evolución de la legislación que busca minimizar las dificultades en cuanto a los requisitos para el registro de productos considerados de baja toxicidad es que no es necesario destruir áreas de terceros después de ser utilizados para la experimentación con productos como Agentes de Control Biológico (parasitoides y depredadores) - Instrucción Normativa Conjunta N° 2/06 (Brasil, 2006c), además de productos semioquímicos. Antes de la publicación de la Instrucción Normativa Conjunta N° 25/05 (Brasil, 2005), el propietario de la tierra debería recibir una indemnización por la destrucción de los restos de cultivos, puesto que ya no podría usar el cultivo con ningún otro fin.

A lo largo de los años, los entes gubernamentales han implementado algunas soluciones con el fin de optimizar el procesamiento de los reclamos de registro presentados a la Ley de Plaguicidas y Afines. El Sistema de Solicitud de Análisis de Registros Especiales Temporales Electrónicos (SISRET) fue una de esas soluciones. Sin embargo, desde su implementación hasta ahora, el SISRET solo satisface las necesidades de los pesticidas químicos convencionales. Los productos biológicos y/o naturales, considerados de Baja Toxicidad y Peligrosos, que continúan presentando sus reclamos ante las agencias reguladoras a través de procesos en papel, aún no están contemplados en el sistema electrónico. Esto reduce la agilidad del análisis necesario, ya que los protocolos electrónicos se reciben y analizan de forma inmediata, mientras que los recibidos en papel siguen otro camino de procesamiento hasta llegar a los analistas técnicos.

Otras iniciativas importantes presentadas por el gobierno para agilizar el registro de productos de baja toxicidad y peligrosos se presentaron con la publicación del Decreto N° 6.323/07 (Brasil, 2007) que reglamentó las actividades de la Ley Orgánica N° 10.831/03



(Brasil, 2003) que establece que los insumos de uso reglamentado para la agricultura orgánica deben estar sujetos a un proceso de registro priorizado y diferenciado. En este contexto, el Ministerio sería responsable de velar por su simplificación y agilización, estableciendo los procedimientos técnicos en actos complementarios, junto con los demás organismos federales involucrados en la evaluación y registro de estos productos, Anvisa e Ibama.

Aun así, solo con la publicación del Decreto N° 6913/09 (Brasil, 2009) se entendió mejor la conexión entre la Ley Orgánica y la Ley de Plaguicidas y Afines, ya que este Decreto se sumó a las disposiciones del Decreto N° 4.074/02 (Brasil, 2002), que regula la Ley de Plaguicidas y Afines, definiciones como Producto Fitosanitario para uso en Agricultura Orgánica y también la definición de Especificación de Referencia, definida como las especificaciones y garantías mínimas que deben seguir los productos fitosanitarios con uso aprobado en la agricultura orgánica para obtener registro. El Decreto N° 6913/09 y el INC ° 1 (Brasil, 2011a) también detallaron los procedimientos a seguir para el registro de estos productos.

Al cierre del 2018 se publicaron 36 (treinta y seis) Especificaciones de Referencia, presentando las características y estándares de concentración establecidos por el Gobierno para el registro de productos como Producto Fitosanitario con uso aprobado en Agricultura Orgánica, teniendo garantizada la organización de procesos en forma simplificada, así como la priorización y agilización del análisis de reclamos en cada uno de los Órganos de las agencias reguladoras federales, Mapa, Anvisa e Ibama.

Los productos que forman parte de la lista positiva de las Especificaciones de Referencia publicadas hasta el momento por el Gobierno son:

a) Instrucción Normativa Conjunta SDA/SDC N° 02 de 12 de julio de 2013 (Brasil, 2013).

1 – *Cotesia flavipes*; 2 – *Trichogramma galloi*; 3 – *Neoseiulus californicus*; 4 – Cebo vegetal a base de *Tephrosia candida*; 5 – Baculovirus *Anticarsia gemmatalis*; 06 – Baculovirus *Condylorrhiza vestigialis*; 7 – *Metarhizium anisopliae* aislado IBCB 425; 8 – *Trichoderma stromaticum* aislado CEPLAC 3550; 9 – *Azadirachta indica* (item cambiado por INC SDA/SPRC N° 1 del 6 de noviembre de 2015) (Brasil, 2015b); 10 – *Beauveria bassiana* IBCB 66; 11 – *Phytoseiulus macropilis*; 12 – *Trichogramma pretiosum*; 13 – Regulador de crecimiento hecho a base de *Ecklonia maxima*; 14 – Tierra de diatomeas (dióxido de silicio); 15 – *Paecilomyces lilacinus* aislado UEL Pae 10;

b) Instrucción Normativa Conjunta SDA/SDC N° 01 del 6 de febrero de 2015 (Brasil, 2015a):

16 – *Stratiolaelaps scimitus*; 17 – *Deladenus (Beddingia) siricidicola*; 18 – *Cryptolaemus montrouzieri*; 19 – *Trichoderma asperellum* aislado URM-5911; 20 – Baculovirus *Spodoptera frugiperda* (item cambiado por INC SDA/SPRC N° 1 de 6 de noviembre de 2015) (Brasil, 2015b).

- c) Instrucción Normativa Conjunta SDA/SPRC N° 1, del 6 de noviembre de 2015 (Brasil, 2015b):

9 – *Azadirachata indica* (ítem 9 del Anexo I y el ítem 20 del Anexo II, ambos de la Instrucción Normativa Conjunta SDA/SDC N° 2, del 12 de julio de 2013 (Brasil, 2013), cambiado por la INC SDA/SPRC N° 1 de 6 de noviembre de 2015) (Brasil, 2015b); 20 – *Baculovirus Spodoptera frugiperda*; 21 – *Chrysoperla externa*; 22 – *Trissolcus basalidis*; 23 – *Orius insidiosus*; 24 – *Trichoderma asperellum* aislado CBMAI 840 (T-211); 25 – *Bacillus subtilis* aislado UFPEDA 764; 26 – *Trichoderma harzianum* aislado IBLFO06; 27 - *Bacillus methylotrophicus* aislado UFPEDA 20.

- d) Instrucción Normativa Conjunta SDA/SMC N° 1, del 28 de noviembre de 2017 (Brasil, 2017):

28 – *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* aislado HD-1 (S1450) (CCT1306); 29 – *Beauveria bassiana* aislado CBMAI 1306.

- e) Instrucción Normativa Conjunta SDA/SMC N° 1, del 16 de abril de 2018 (Brasil, 2018a):

30 - *Beauveria bassiana* aislado IBCB 66 + *Metarhizium anisopliae* aislado IBCB 425.

- f) Instrucción Normativa Conjunta SDA/SMC N° 2, del 29 de agosto de 2018 (Brasil, 2018b):

31 - Acetato de (Z)-8-dodecenil + Acetato de (E)-8-dodecenil + (Z)-8-dodecenol (monitoreo – uso en trampas); 32 - Acetato de (E)-8-dodecenil + Acetato de (Z)-8-dodecenil + (Z)-8-dodecenol (monitoreo -uso en trampas); 33 - Acetato de (Z)-8-dodecenil + Acetato de (E)-8-dodecenil + (Z)-8-dodecenol (disrupción del apareamiento); 34 - Acetato de (E)-8-dodecenil + Acetato de (Z)-8-dodecenil + (Z)-8-dodecenol (disrupción del apareamiento); 35 - *Bacillus thuringiensis* aislado CBMAI 1398; 36 - *Diachasmimorpha longicaudata*.

Un ejemplo importante de avance en la legislación para brindar beneficios a los productos considerados de Baja Toxicidad y Peligrosidad en comparación con los plaguicidas convencionales es la publicación del Mapa ATO N° 6 del enero de 2014 (Brasil, 2014), la cual autorizó el uso de estos productos para el control de los organismos objetivo indicados en cualquier cultivo en el que estén presente, salvo en casos en que existan restricciones por parte de los organismos competentes, permitiendo que las empresas puedan mostrar o no en la etiqueta y prospecto, la eficacia probada del producto para los cultivos en los que fueron ensayados. Asimismo, el ATO Mapa N° 105, del 28 de diciembre de 2018 (Brasil, 2018c), exime la realización de pruebas de Toxicidad/Patogenicidad y Ecotoxicidad en la Fase I de las evaluaciones para productos a base de *Baculovirus*, por sus características, reconociéndolas como típicos patógenos de artrópodos y que presentan una alta especificidad en relación con la especie objetivo.

Otros ejemplos hacen referencia al contenido de la información obligatoria mostrada en la etiqueta y prospecto para productos de baja toxicidad, así como al uso de pictogramas como una calavera con dos tibias cruzadas, entre otros símbolos que, a lo largo del tiempo, fueron aceptados como inapropiados por el Gobierno. En este sentido, los productos de origen biológico, cuando estén exentos de presentar estudios toxicológicos conforme a la legislación específica, están exentos de incluir el pictograma referido al cráneo con las dos tibias cruzadas en sus etiquetas y prospectos, además de estar clasificados en la categoría de “Producto no clasificado”, según las resoluciones RDC Anvisa 296/19 y RDC Anvisa 294/19, además de presentar la franja de identificación de color verde o blanco, siguiendo los lineamientos de etiquetado del Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos GHS, adoptado por Anvisa (Brasil 2019a; 2019b).

El avance de la legislación brasileña en cuanto a la regulación del registro de productos diferenciados de plaguicidas convencionales tiene como objetivo legalizar los productos que forman parte de alternativas sostenibles para el control de plagas en la agricultura brasileña. Aun así, la clasificación de productos considerados de Baja Toxicidad y Peligrosidad como Productos Microbiológicos, además de muchos otros en la definición de Plaguicidas y Productos Afines, trajo dificultades para su registro, debido a la complejidad de los requisitos técnicos exigidos, así como los costos relacionados con la obtención de todos estos datos. Muchas innovaciones implementadas por el Gobierno como se describió anteriormente aún enfrentan dificultades por el escaso número de técnicos especializados que se dediquen al análisis de estos productos, diferenciados de los pesticidas convencionales, dentro de los Entes Federales, comprometiendo así la agilización de liberación de los procesos.

Es fundamental recordar que el registro de Plaguicidas y Productos Afines es una condición obligatoria, pero no suficiente, para cualquier actividad que utilice estos productos en Brasil. Para gozar de los derechos adquiridos por el Certificado de Registro, un titular de registro no debe olvidarse de observar todas las posibles normas legales que rigen el sector.

**Tabla 2.** Estudios Requeridos para Evaluación Toxicológica, Ecotoxicológica y de Patogenicidad de Productos Microbiológicos según INC N° 03/2006. Estudios necesarios para la caracterización del producto

Propiedades físico-químicas		
3. Miscibilidad (T)	PT o PF	
4. pH (T)	PT o PF	
5. Densidad (T)	PT o PF	
6. Estabilidad (T)	PT o PF	Luz solar, pH 5, 7, 9; aire, temperatura, metales y sus iones
Estabilidad durante el almacenamiento (T)	PT o PF	Condiciones para el mantenimiento del producto

8. Viscosidad (T)	PT o PF	Solo para líquidos a temperatura ambiente
9. Características corrosivas (T)	PT o PF	Con relación a materiales de acondicionamiento

Leyenda: IA = ingrediente activo; PT = producto técnico; PF = producto formulado; T = prueba

**Tabla 3.** Estudios necesarios para la evaluación toxicológica y de patogenicidad, divididos en tres fases: FASE I

Parámetros	EE	Producto (s) a evaluar	Observaciones
1. Toxicidad/patogenicidad oral aguda	R	IA o PT y PF	
2. Toxicidad/patogenicidad pulmonar aguda	R	IA o PT y PF	
3. Toxicidad/patogenicidad intravenosa aguda	RC	IA o PT y PF	Es exigido cuando el IA es una bacteria o virus
4. Toxicidad/patogenicidad intraperitoneal	RC	IA o PT y PF	Es exigido cuando el IA es un hongo o protozooario
5. Sensibilización dérmica	R	PT y PF	
6. Cultivo de células	RC	IA o PT	Es exigido cuando el IA es un virus
7. Toxicidad cutánea aguda	R	IA o PT y PF	
8. Irritación/infección ocular primaria	R	IA o PT y PF	
9. Irritación cutánea primaria	RC	IA o PT y PF	Es exigido cuando el microorganismo está relacionado taxonómicamente con otro que se sepa que sea irritante. Dispensado para pH < 2 o pH > 11

Leyenda: EE = especificación de la exigencia R = requerido RC = requerido condicionalmente

**Tabla 4.** Estudios necesarios para la evaluación toxicológica y de patogenicidad, divididos en tres fases: FASE II

Parámetros	EE	Producto (s) a evaluar	Observaciones
Toxicidad oral aguda – DL <sub>50</sub>	RC	IA o PT y PF	Requerido cuando se observa toxicidad oral pero no patogenicidad o infectividad en estudios agudos de Fase I.
Toxicidad inhalatoria aguda – CL <sub>50</sub>	RC	IA o PT y PF	Requerido cuando se observa toxicidad pulmonar pero no patogenicidad o infectividad en estudios agudos de fase I.
Toxicidad/patogenicidad subcrónica	RC	IA o PT	Requerido cuando se observa una infectividad anormal y / o persistencia, en ausencia de patogenicidad y / o toxicidad de los estudios de Fase I; las vías de exposición deben corresponder a aquellas en las que se observaron efectos adversos. También puede ser necesario evaluar los efectos adversos debidos a contaminantes microbianos o subproductos tóxicos, independientemente de los efectos de la Fase I.

Leyenda: EE = especificación de las exigencias; RC = requerido condicionalmente; IA = ingrediente activo; PT = producto técnico; PF = producto formulado.

**Tabla 5.** Estudios necesarios para la evaluación toxicológica y de patogenicidad, divididos en tres fases: FASE III

Parámetros	EE	Producto(s) a evaluar	Observaciones
Efectos sobre la reproducción/ fertilidad e teratogénesis	RC	IA o PT	Requerido cuando se observe alguna de las siguientes situaciones: infectividad por el agente de control en animales en el estudio subcrónico de Fase II, pero sin signos de patogenicidad o toxicidad; si el agente de control es un virus que puede persistir o replicarse en mamíferos; el agente microbiológico no es completamente patógeno o tóxico; si el microorganismos conocido está relacionado taxonómicamente con organismos parásitos de células de mamíferos; cuando existan indicios de que puedan contener contaminantes que sean parásitos de animales. Requerido para productos que contengan o se sospeche que contengan virus cancerígenos. Requerido para productos que contengan o se sospeche que contengan virus que pueden interactuar de manera adversa con componentes del sistema inmunológico de los mamíferos
Carcinogenicidad	RC	IA o PT	
Respuesta de inmunidad celular	RC	IA o PT	

Leyenda: EE = especificación de las exigencias; RC = requerido condicionalmente; IA = ingrediente activo; PT = producto técnico

**Tabla 6.** Estudios necesarios para la evaluación ecotoxicológica, divididos en tres fases: FASE I.

Pruebas	EE	Producto(s) a evaluar	Observaciones
1. Oral para aves		R IA o PT	
2. Inhalatorio para aves de corral	RC	IA o PT	Requerido cuando la naturaleza del agente microbiológico y/o sus toxinas indican una patogenicidad potencial para las aves.
3. Mamíferos salvajes	RC	IA o PT	
4. Peces de agua dulce	R	IA o PT	
5. Invertebrados de agua dulce	R	IA o PT	
6. Estuario y animales marinos	RC	IA o PT	Cuando sea usado de manera directa en estuarios y ambientes marinos o cuando se espere que llegue en concentraciones significativas a dichos ambientes (patrón de uso, movilidad del agente).
7. Plantas no objetivo	RC	IA o PT	
8. Insectos no objetivo	R	IA o PT	
9. Abejas	R	IA o PT	
10. Lombrices de tierra	RC	IA o PT	

Leyenda: EE = especificación de las exigencias; RC = requerido condicionalmente; IA = ingrediente activo; PT = producto técnico

**Tabla 7.** Estudios necesarios para la evaluación ecotoxicológica, divididos en tres fases: FASE II.

Pruebas	EE	Producto(s) a evaluar	Observaciones
1. Comportamiento en ambiente terrestre	RC	IA o PT	Requerido cuando se observan efectos patógenos o tóxicos en pruebas de Fase I sobre organismos terrestres. Requerido cuando se observan efectos patógenos en las pruebas de Fase I sobre organismos acuáticos de agua dulce.
2. Comportamiento en estuarios y ambientes marino	RC	IA o PT	Requerido cuando el producto es usado en aplicaciones terrestres o en agua dulce y se observan efectos tóxicos o patógenos en cualquiera de los estudios de Fase I sobre organismos estuarinos y marinos; o cuando el producto está recomendado para ambientes marinos o de estuario o se observan efectos tóxicos o patógenos en alguna de las siguientes pruebas de Fase I: oral aguda en aves; inhalación en pájaros; toxicidad/patogenicidad en animales marinos o de estuario.

Leyenda: EE = especificación de las exigencias; RC = requerido condicionalmente; IA = ingrediente activo; PT = producto técnico

**Tabla 8.** Estudios necesarios para la evaluación ecotoxicológica, divididos en tres fases: FASE III.

Pruebas	EE	Producto(s) a evaluar	Observaciones
Organismos terrestres o acuáticos	RC	IA o PT	Requerido cuando se observan efectos tóxicos en organismos silvestres no objetivo, sean terrestres o acuáticos, en una o más pruebas de la Fase I y cuando los resultados de la Fase II indiquen la exposición de dichos organismos al agente microbiológico
Patogenicidad crónica y reproducción de aves	RC	IA o PT	Requerido cuando se observen efectos patógenos en aves durante la Fase I; cuando se reporten efectos carcinógenos o teratogénicos crónicos durante las pruebas de detección (tóxico-patológicas); cuando las pruebas de comportamiento ambiental de la fase II indiquen probabilidad de que los animales terrestres estén expuestos al agente de control.
Especificidad de los invertebrados acuáticos y estudios del ciclo biológico de los peces	RC	IA o PT	Requerido cuando el producto esté indicado para ser usado en agua o cuando exista la posibilidad de que sea transportado más allá del lugar de aplicación y cuando se observa patogenicidad o infectividad en el agua durante las pruebas acuáticas de la Fase I.
Plantas no objetivo	RC	IA o PT	Si el producto se transporta desde el lugar de aplicación a través del suelo, aire, agua o animales, y cuando se observa la patogenicidad objetivo. El grado de toxicidad sobre plantas en la movilización será determinada mediante pruebas de la Fase II

## Perspectivas de mercado en Brasil

En los últimos años, la popularidad del biocontrol y los productos alternativos o biocompatibles ha aumentado, no solo entre los agricultores y diferentes segmentos de la sociedad brasileña, sino también entre los técnicos de las empresas de plaguicidas químicos. Asociado a esto, el desarrollo de estos productos es una prioridad en varias agencias de

financiamiento de investigación y desarrollo, así como en varias instituciones de investigación y enseñanza y en empresas comercializadora de plaguicidas. Este cambio se ve reflejado en el crecimiento anual del mercado, hecho demostrado en el considerable aumento de las ventas de productos biológicos en Brasil durante 2018 (Mapa, 2019).

Un aspecto importante es que los agricultores están ávidos de técnicas alternativas que les permita hacer frente a los problemas fitosanitarios, ya que creen que pueden reducir los costos y satisfacer la demanda de alimentos libres de plaguicidas químicos. Estos nuevos productos deben formar parte del manejo integrado de plagas, ya que ciertamente habrá una reducción en los costos de producción de alimentos, fibras y energía, así como también habrá mejoría en la calidad de los alimentos producidos.

Es importante enfatizar que es necesario incrementar el uso de bioplaguicidas y productos biocompatibles en la agricultura brasileña, ya que son esenciales para la agroindustria. También es necesario mejorar urgentemente la regulación y registro de bioplaguicidas y productos biocompatibles, ya que aumentará la ventaja competitiva del país dado que el mayor uso de bioplaguicidas y productos biocompatibles reduce los impactos ambientales de los plaguicidas químicos, además de contribuir con el manejo integrado de plagas. Por ello, es fundamental desarrollar nuevos productos, con formulaciones innovadoras orientadas a incrementar la oferta y, en consecuencia, estimular la generación de demanda.

Aunque culturalmente siempre se relaciona que la agricultura orgánica, el biocontrol y los productos alternativos o biocompatibles van de la mano y que la agricultura orgánica representa el gran mercado del control biológico, en Brasil el mayor mercado de bioplaguicidas y productos biocompatibles es la agricultura convencional.

## **Desafíos para el desarrollo de biopesticidas en Brasil**

Existen varios desafíos para el desarrollo de bioplaguicidas en Brasil y algunos se discutirán a continuación, sin significar que sean los más importantes.

1 Mejorar el enfoque de abordaje para cambiar la cultura de uso de plaguicidas existentes entre los agricultores, agrónomos, profesores, investigadores y otros actores y así aumentar la comprensión del biocontrol.

3. Realizar investigación básica sobre bioagentes, incluidos los impactos ambientales.

Incrementar la disponibilidad de productos biológicos con nuevos agentes de biocontrol en el mercado. Por tanto, es fundamental llevar a cabo el aislamiento y selección de nuevos bioagentes, ya que actualmente existen pocas especies que son comercializadas. En este sentido, en el proceso de aislamiento y selección de aislamientos de *Trichoderma* sería importante buscar cepas resistentes a algunos de los principales principios activos utilizados en el tratamiento de semillas. También sería importante ofrecer en el mercado aislados de

*Trichoderma* que sean resistentes a los principales principios activos de los fungicidas aplicados en los cultivos. Esta característica facilitaría el manejo integrado de enfermedades de las plantas. Además, es de suma importancia que las empresas brinden información sobre la compatibilidad de sus formulaciones a base de *Trichoderma* con los principales plaguicidas utilizados en el cultivo. Algunos aspectos de la compatibilidad de fungicidas con *Trichoderma* se analizan en el capítulo 12.

4. Incrementar el número de laboratorios/empresas que trabajan con la multiplicación de organismos y técnicas de producción para mejorar la calidad de los productos obtenidos, así como incrementar la disponibilidad de productos para los agricultores. Los procesos de producción de agentes de biocontrol deben ser más eficientes, tanto desde el punto de vista de la eficiencia productiva (concentración y viabilidad del organismo) como desde el punto de vista del costo de producción. Con relación a *Trichoderma*, se reconoce que existe la necesidad de procesos de producción más eficientes. Existe una necesidad constante de mejorar el proceso de multiplicación de *Trichoderma* para obtener la mayor producción de las estructuras a formular. Actualmente, la producción de *Trichoderma* es hecha básicamente por fermentación sólido-estática y rara vez por fermentación líquida sumergida, y las técnicas, así como las ventajas y desventajas de cada proceso se describen en el capítulo 8. Uno de los aspectos importantes a considerar es el tipo de estructura reproductiva que se desea producir de *Trichoderma*. Por ejemplo, para ciertos usos, la producción de clamidosporas y microesclerocios sería más importante que la de conidios, dada la mayor resistencia a los estreses de esta estructura.

5. Cambiar la relación entre empresas e instituciones de investigación y docencia para el desarrollo de proyectos conjuntos, combinando el conocimiento de la industria con relación al mercado y los conocimientos básicos en microbiología, entomología y agronomía de las instituciones de investigación.

6. Control de calidad de los productos comercializados. El control de calidad es un paso esencial durante todo el proceso de producción. Actualmente, para *Trichoderma* existen varias metodologías a utilizar, como se describe en el capítulo 9. Sin embargo, existe la necesidad de buscar nuevas posibilidades, como el desarrollo de métodos más rápidos de cuantificación y de evaluación de la viabilidad de las estructuras reproductivas de los microorganismos, como por ejemplo el uso de láser. Aparte de la viabilidad, también se debe evaluar el vigor de las estructuras en el control de patógenos hasta el final de la vida útil del producto.

7. Desarrollo de formulaciones adecuadas para mantener la viabilidad del principio activo con miras a la protección de las estructuras reproductivas, la persistencia y efectividad en campo, así como una vida útil de más de un año. Además, las formulaciones deben presentar la mayor concentración posible de estructuras de *Trichoderma* para reducir los costos logísticos



y la facilidad de aplicación en el campo. Las formulaciones también necesitan mantener el vigor de la estructura utilizada de *Trichoderma*. En los capítulos 8 y 10 se discuten diferentes aspectos sobre los procesos de multiplicación y formulación de *Trichoderma*. Además del desarrollo de formulaciones con estructuras de *Trichoderma*, también existe la necesidad de desarrollar formulaciones que contengan *Trichoderma* en mezcla con otros bioagentes. Esta es una forma de alcanzar diferentes objetivos o incluso permitir que diferentes mecanismos de acción actúen simultáneamente sobre el mismo objetivo. Esta mezcla puede aumentar la eficacia de un producto biológico en el control de enfermedades. Acción sinérgica, por ejemplo, *Trichoderma* con *Clonostachys*. Otra posibilidad es la mezcla de un agente biológico de control de enfermedades con un agente biológico para el control de plagas, por ejemplo, formulaciones que contienen una mezcla de *Trichoderma* con *Metarhizium* o *Trichoderma* con *Beauveria*.

7. Ajustar la producción a escala y la logística de distribución y transporte.

9. Capacitación sobre el uso e integración de bioplaguicidas dentro de los sistemas de cultivo. La recomendación técnica debe estar dirigida a cada sistema de producción/cultivo, considerando también la evaluación del histórico del área. Los cultivos, las enfermedades y las interacciones que se han producido a lo largo de los años deben analizarse desde un punto de vista más amplio. El momento, el modo y las condiciones climáticas durante la aplicación, así como el equipo y la compatibilidad entre los productos a utilizar. Todo este conocimiento dará como resultado el manejo integrado del agroecosistema. También necesita mejorar el conocimiento de la estructura y el funcionamiento del agroecosistema. La recomendación técnica para el control biológico es fundamental y difiere de la recomendación para los productos químicos, ya que también implica un concepto más amplio de lo que es el control biológico, dado que un nuevo elemento vivo formará parte del sistema. El índice de control involucrado en el control biológico es diferente al control químico. En muchas situaciones, un control por debajo del estándar químico no representa la ineficacia del producto, sino la posibilidad de controlar el bioagente. Por tanto, es fundamental utilizar todas las técnicas de manejo para que la enfermedad no alcance el umbral de daño económico. Así, la demanda de investigación para determinar el momento de aplicación es fundamental para el éxito de la técnica. También es necesario comprender las diferencias en el concepto de eficiencia biológica y eficiencia agronómica. Este solo hecho a menudo puede dar lugar a malas interpretaciones. Además, en el manejo integrado, el control biológico siempre requiere un período más largo para verificar la eficacia del agente.

10. Políticas públicas adecuadas para favorecer el biocontrol, mediante incentivos fiscales y crediticios.

11. Reglamentaciones para la investigación, desarrollo y registro de bioplaguicidas.

12. Tecnología de aplicación y liberación

## Consideraciones finales

*Trichoderma* es más que un agente biológico para el control de enfermedades. Tiene otros usos diferentes, como la producción de enzimas para industrias. Además, puede contribuir con la agricultura en varios aspectos fundamentales como: aumentar la eficiencia del uso del nitrógeno, promover el desarrollo y la productividad de las plantas y aliviar los impactos del estrés salino. Estos tres aspectos se discutirán en los próximos tres párrafos.

El primer aspecto está relacionado con el nitrógeno. El nitrógeno es uno de los nutrientes esenciales para las plantas y su deficiencia es un factor limitante para el crecimiento, desarrollo y productividad de los cultivos. Sin embargo, la mayor fracción de nitrógeno del suelo está presente en forma orgánica, presente en la materia orgánica o como parte de organismos vivos, que no está directamente disponible para las plantas (Cantarela, 2007). En los últimos 40 años, la producción de cereales se ha triplicado. Por otro lado, la cantidad de nitrógeno sintético aplicado a los cultivos para aumentar su productividad aumentó de 12.000.000 ton/año a 104.000.000 ton/año (Mulvaney et al., 2009), de los cuales el 30 al 50% son absorbidos por la planta en desarrollo, mientras que el resto se pierde, lo cual tiene un impacto muy negativo en el ambiente (Rockström et al., 2009). Además, los fertilizantes nitrogenados son producidos principalmente a partir de combustibles fósiles no renovables (Cantarela, 2007). Varios estudios han demostrado que las plantas tratadas con *Trichoderma*, además de tener control de enfermedades, muestran mayores rendimientos que las plantas sin tratar (Harman, 2000; Harman, 2011; Harman et al., 2010; Shores et al., 2010; Rubio et al., 2014; 2017). Aunque los estudios sobre el papel de *Trichoderma* en la asimilación simbiótica de nitrógeno como un componente importante de tales respuestas beneficiosas aún son escasos, Harman (2000) señaló que *Trichoderma harzianum* favoreció la absorción de nitrógeno en los ensayos de campo de maíz. Así, una de las posibles indicaciones para el uso de *Trichoderma*, y por tanto un nuevo mercado para este bioagente, sería su uso orientado al aprovechamiento eficiente del nitrógeno.

El segundo aspecto por discutir es el potencial de *Trichoderma* en la promoción del crecimiento y la productividad de las plantas. El uso de *Trichoderma* en relación con la promoción del crecimiento de las plantas, un mecanismo discutido en el capítulo 4, es de gran importancia. Harman (2011) reporta un aumento promedio en la productividad del maíz de aproximadamente 820 kg/ha con el tratamiento de semillas con *Trichoderma*. El efecto mediado por *Trichoderma* sobre la promoción del crecimiento de las plantas se analiza a lo largo del libro. Por ejemplo, se ha reportado que el tratamiento de las semillas de arroz, trigo y tomate con *T. harzianum* aumenta la tasa fotosintética, el peso de la planta, la longitud de sus raíces y brotes y el número de hojas y área foliar (Rawat et al., 2011; Domínguez et al., 2016).

En el mercado mundial, existen varios productos que están formulados a base de *Trichoderma* y que han sido registrados como promotores del crecimiento. Varios de estos productos se describen en el capítulo 2. Esta promoción del crecimiento será fundamental para aumentar la disponibilidad de alimentos, incluso considerando que la mejora de los rendimientos de los cultivos ayudará a reducir los costos ambientales.

El tercer aspecto por considerar es el potencial de *Trichoderma* para disminuir el estrés salino. Es ampliamente reconocido que las especies de *Trichoderma* protegen a las plantas contra patógenos por competencia, micoparasitismo y antibiosis (Lorito et al., 2010; Druzhinina et al., 2011), promueven el crecimiento de las plantas e inducen defensas contra el estrés biótico y abiótico (Shoresh et al., 2010; Hermosa et al., 2012). También se ha reportado que *Trichoderma* spp. son eficaces para disminuir los efectos adversos que tiene el estrés salino en las plantas (Mastouri et al., 2010; Rubio et al., 2014). En un estudio donde se evaluaron los parámetros fisiológicos y las alteraciones de la expresión génica vinculados con estreses abióticos con el fin de investigar las respuestas de plantas de tomate fertilizadas y no fertilizadas con fertilizantes minerales y sometidas o no a estrés salino, Rubio et al. (2017) señalaron que *Trichoderma harzianum* T34, en ausencia de fertilización mineral, promovió el crecimiento de las plantas de tomate, independientemente del estrés salino. Sin embargo, los mismos autores encontraron que la combinación de fertilización mineral y biológica (con *Trichoderma*) aumentaba la sensibilidad de las plantas de tomate al estrés salino y evitaba las respuestas adaptativas. Estos resultados evidencian el potencial del bioagente para mediar el estrés salino, pero también indican que pueden ocurrir problemas en plantas sobre estimuladas.

*Trichoderma* seguirá utilizándose principalmente como agente de control biológico, pero tiene un potencial considerable para aumentar la eficiencia en el uso de nitrógeno, promover el desarrollo y la productividad de las plantas y disminuir los impactos del estrés salino. Para que este organismo desempeñe estos nuevos roles y además continúe actuando como el principal bioagente fúngico en el control biológico de las enfermedades de las plantas, será fundamental la selección de nuevas especies y la mejora de todo el sistema de multiplicación y formulación.

## Referencias

AGROFIT: consulta abierta. Brasília, DF: Mapa, c2003. Disponible en: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agro\\_fit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons)>. Acceso en mar. 2019.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 294, de 29 de julho de 2019. Dispõe sobre critérios de avaliação e classificação toxicológica, priorização da análise e comparação da ação toxicológica de agrotóxicos, componentes e afins e preservativos de madeira e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 31 sept. 2019b, v. 146, Sección 1, p. 78.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução - RDC nº 195, de 8 de julho de 2002. Regulamentação de Produtos Semoquímicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 jul. 2002, Sección 1, p. 229-230.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 296, de 29 de julho de 2019. Adota as diretrizes de rotulagem do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos, GHS. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 jul. 2019a, v. 146, Sección 1, p. 88-89.

BETTIOI, W. Biopesticide use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v. 22, n. 6, p. 280-284, 2011.

BETTIOI, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M. P. Control biológico de enfermedades de plantas en Brasil. In: BETTIOI, W.; RIVERA, M. C.; MONDINO, P.; MONTEALEGRE, J. R.; COLMENÁREZ, Y. C. **Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe**. [Montevideo]: Facultad de Agronomía, Universidad de la República, 2014., p. 91-137, 2014, p. 91-137.

BRASIL. Decreto nº 24.114, de 12 de abril de 1934. Aprova o Regulamento de Defesa Sanitária Vegetal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 dec. 1934, Sección 1, p. 555.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 8 ene. 2002, Sección 1, p. 1-12.

BRASIL. Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007. Dispõe sobre agricultura orgânica. **Diário Oficial da União**, Brasília, 28 dec. 2007, Sección 1, p. 2.

BRASIL. Decreto nº 6.913, de 23 de julho de 2009. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 jul. 2009, Sección 1, p. 8.

BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 dec. 2003, Sección 1, p. 8-9.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 12 de julho de 1989. Dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 jul. 1989, Sección 1, p. 11459-11460.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ato CGAL/SDA/Mapa nº 6, de 23 de janeiro de 2014. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 ene. 2014, Sección 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ato CGAL/SDA/Mapa nº 105, de 28 de dezembro de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 dec. 2018c, Sección 1, pág. 11.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 25, de 14 de setembro de 2005. Regula-menta o Registro Especial Temporário. **Diário Oficial da União**, Brasília, 15 sept. 2005a, Sección 1, p. 4-6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 32, de 26 de outubro de 2005. Estabelece procedimentos a serem adotados para efeito de registro de produtos bioquímicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 03 nov. 2005a, Sección 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 1, de 23 de janeiro de 2006. Estabelece procedimentos a serem adotados para efeito de registro de produtos semioquímicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 ene. 2006a, Sección 1, p. 7-8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 3, de 10 de março de 2006. Estabelece normas específicas para fins de registro de produtos microbiológicos que se caracterizem como produtos técnicos, agrotóxicos e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, 15 mar. 2006b, Sección 1, p. 23-25.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 2, de 23 de janeiro de 2006. Estabelece procedimentos a serem adotados para efeito de registro de Agentes Biológicos de Controle. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 ene. 2006c, Sección 1, p. 8.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 2, de 12 de julho de 2013. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 jul. 2013, Sección 1, p. 6-8.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 1, de 06 de febrero de 2015. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 feb. 2015a, Sección 1, p. 2-3.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 1, de 28 de noviembre de 2017. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 01 dec. 2017, Sección 1, p. 31-33.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 1, de 16 de abril de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 abr. 2018a, Sección 1, p. 10-11.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 2, de 29 de agosto de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 03 de set. de 2018b, Sección 1, p. 27-31.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC nº 1, de 06 de noviembre de 2015. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 nov. 2015b, Sección 1, p. 36-39.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Mercado de bio defensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano.** [2019]. Disponible en: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/feffmercado-de-bio-defensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>>. Acceso el: 24 abr. 2019.
- BRASIL. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 03, de 16 de janeiro de 1992. Diretrizes e exigências referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 4 feb. 1992.
- CANTARELA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. V. H.; BARROS, N. E.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Eds.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. p. 375-470.
- CASTRO, M. L. M. P.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Avaliação ambiental de produtos biológicos. In: OLIVEIRA-FILHO, E. C.; MONERAT, R. G. (Eds.). **Fundamentos para a regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006. p. 343-352.
- COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St Paul: APS, 1983. 539 p.
- DOMÍNGUEZ, S.; RUBIO, M. R.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; NICOLÁS, C.; BETTIOL, W. Nitrogen metabolism and growth enhancement in tomato plants challenged with *Trichoderma harzianum* expressing the *Aspergillus nidulans* acetamidase amdS gene. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1182, 2016.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 9, p. 749-759, 2011.
- HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, p. 377-393, 2000.
- HARMAN, G. E. *Trichoderma*: not just for biocontrol anymore. **Phytoparasitica**, v. 39, p. 103-108, 2011.
- HARMAN, G. E.; OBREGON, M. A.; SAMUELS, G. J.; AND LORITO, M. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developed and developing world. **Plant Disease**, v. 94, p. 928-939, 2010.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, p. 17-25, 2012.
- IBAMA. Portaria Normativa nº 131, de 03 de novembro de 1997. Estabelece os critérios a serem adotados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 4 nov. 1997, Sección 1, p. 24988-24991.
- LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 395-417, 2010.
- MARKETS AND MARKETS. **Biopesticides market by type, source, mode of application, formulation, crop application and region: global forecast to 2023**. Charing REPORT BUYER, 2019. Disponible en: <<https://www.reportbuyer.com/product/4364825>>. Acceso el: 7 mar. 2019.
- MASTOURI, F.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. **Phytopathology**, v. 100, p. 1213-1221, 2010.

- MULVANEY, R. L.; KHAN, S. A.; ELLSWORTH, T. R. Synthetic nitrogen fertilizers deplete soil nitrogen: a global dilemma for sustainable cereal production. **Journal of Environmental Quality**, v. 38, p. 2295-2314, 2009.
- RANGEL, L. E. P. Eficiência e praticabilidade de produtos biológicos. In: OLIVEIRA-FILHO, E. C.; MONERAT, R. G. (Eds.). **Fundamentos para a regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006. p. 313-323.
- RAWAT, L.; SINGH, Y.; SHUKLA, N.; KUMAR, J. Alleviation of the adverse effects of salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) by seed biopriming with salinity tolerant isolates of *Trichoderma harzianum*. **Plant and Soil**, v. 347, p. 387-400, 2011.
- ROCKSTRÖM, J.; STEFFEN, W.; NOONE, K.; PERSSON, A.; CHAPIN, F. S.; LAMBIN, E. F.; LENTON, T. M.; SCHEFFER, M.; FOLKE, C.; SCHELLNHUBER, H. J.; NYKVIST, B.; DE WIT, C. A.; HUGHES, T.; VAN DER LEEUW, S.; RODHE, H.; SÖRLIN, S.; SNYDER, P. K.; COSTANZA, R.; SVEDIN, U.; FALKENMARK, M.; KALBERG, L.; CORRELL, R. W.; FABRY, V. J.; HANSEN, J.; WALKER, B.; LIVERMAN, D.; RICHARDSON, K.; CRUTZEN, P.; FOLEY, J. A. A safe operating space for humanity. **Nature**, v. 461, p. 472-475, 2009.
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; VICENTE, R.; GÓMEZ-ACOSTA, F. A.; MORCUENDE, R.; MONTE, E.; BETTIOL, W. The Combination of *Trichoderma harzianum* and Chemical Fertilization Leads to the Deregulation of Phytohormone Networking, Preventing the Adaptive Responses of Tomato Plants to Salt Stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 294, 2017.
- RUBIO, M. B.; QUIJADA, N. M.; PÉREZ, E.; DOMÍNGUEZ, S.; MONTE, E.; HERMOSA, R. Identifying beneficial qualities of *Trichoderma parareesei* for plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, p. 1864-1873, 2014.
- SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 21-43, 2010.



# Productos comerciales a base de *Trichoderma*

*Wagner Bettiol*

*Zayame Vegette Pinto*

*Juliano Cesar da Silva*

*Cassiano Forner*

*Mírian Rabelo de Faria*

*Marina Guimarães Pacífico*

*Lilian Simara Abreu Soares Costa*

## Introducción

Este capítulo fue elaborado como una guía que contiene información básica sobre los productos formulados a base de *Trichoderma*, tanto para el control de enfermedades de plantas como para la promoción del crecimiento de las plantas. A lo largo del capítulo, se presenta información sobre 246 productos. Esta información fue obtenida en los sitios web oficiales de las agencias de registro, en los sitios web de las empresas fabricantes y comercializadoras, universidades, instituciones de investigación, agencias de inspección, en revistas científicas y directamente con los técnicos responsables de las empresas. Sin embargo, ciertamente, los autores no tuvieron acceso a todos los productos disponibles en el mercado mundial y, por lo tanto, muchos de los productos utilizados no se presentan en este capítulo. Este hecho indica la dificultad que tuvieron los autores para obtener toda la información y no que omitieran voluntariamente la inclusión de algún producto en esta publicación.

Los autores del capítulo se encargaron de recopilar la información disponible en los distintos órganos. En ese sentido, los autores no realizaron ningún análisis sobre las características y cualidades de los productos, sobre su eficiencia en el control de fitopatógenos o sobre la promoción del crecimiento, sobre los mecanismos de acción u otra información incluida en el capítulo. Así, en ningún momento los autores se suscriben a las indicaciones



de uso, así como a las cualidades de los productos aquí presentados. Es necesario enfatizar que la inclusión u omisión de productos, así como la indicación de uso para el control de enfermedades o promoción del crecimiento, no implica juicio y/o evaluación de la eficiencia por parte de los autores y sus respectivas instituciones.

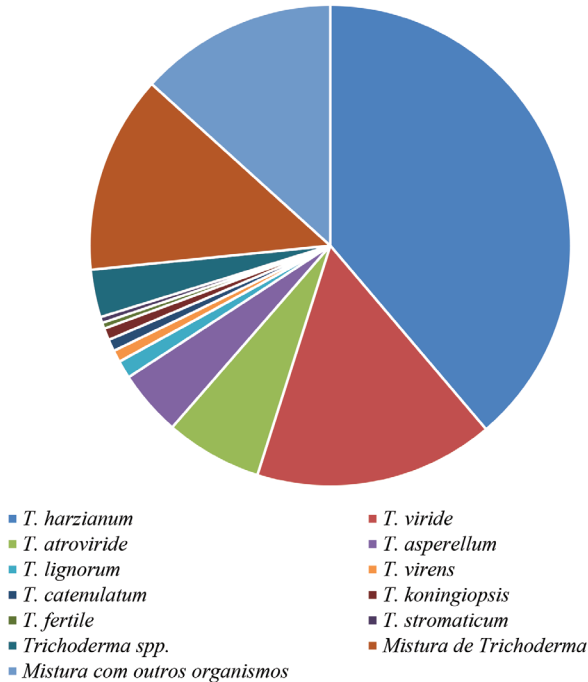
Para facilitar la lectura, así como para mostrar claramente la cantidad de productos disponibles en el mercado, los productos se presentan inicialmente por la especie de *Trichoderma* y luego, en orden alfabético, por el nombre comercial. Para cada producto se muestra la siguiente información: nombre comercial, principio activo, enfermedades y patógenos que controla o si funciona como promotor de crecimiento, modo de acción, características del agente de control biológico, formulaciones disponibles, métodos de aplicación, registro y comercialización y empresa que lo fabrica. Sin embargo, para varios productos no fue posible obtener toda la información, ya que no están disponibles o no fueron encontrados por los autores.

Información sobre agentes de biocontrol de enfermedades de plantas disponibles en el mercado fueron publicados por Bettiol et al. (2009, 2012) y Woo et al. (2017).

Esta publicación muestra de manera puntual parte del mercado mundial de productos a base de *Trichoderma* para el control de enfermedades de plantas y los promotores de crecimiento disponibles. Por tanto, es una publicación que refleja parte de la realidad de marzo de 2019. Así, representa solo una imagen del momento en el mercado mundial. Ciertamente existe un número aún mayor de productos a base de *Trichoderma* que son comercializados en el mundo. Sin embargo, estos fueron los que los autores lograron encontrar de diferentes formas. También es necesario considerar que estos productos pueden ser retirados del mercado, así como ampliar su recomendación, además de que nuevos productos puedan ingresar al mercado.

De los productos a base de *Trichoderma*, *Trichoderma harzianum* es el más comercializado a nivel mundial, encontrándose, al considerar productos sin mezcla de microorganismos, en el 38,8% de los productos comerciales. Sin embargo, al considerar productos con una mezcla de especies de *Trichoderma*, este valor llega a 50% de los productos disponibles en el mercado mundial y se eleva a 60% al considerar todos los productos, incluidos aquellos en los que las especies de *Trichoderma* se mezclan con otros hongos, bacterias o micorrizas. *Trichoderma viride* ocupa el segundo lugar con 16,1%, seguida de *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma* spp., con 6,5, 4,4 y 3,2%, respectivamente. Las otras especies comercializadas individualmente son: *Trichoderma lignorum* (1,2%), *Trichoderma catenulatum* (0,8%), *Trichoderma koningiopsis* (0,8%), *Trichoderma virens* (0,8%), *Trichoderma fertile* (0,4%), *Trichoderma stromaticum* (0,4%). También se comercializan

*Trichoderma gamsii*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma polysporum*, *Trichoderma lignorum*, *Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma parceamosum* (Figura 1). Estas últimas solo en una mezcla de productos. Por lo tanto, considerando que existen 254 especies conocidas de *Trichoderma* (Bissett et al., 2015), el número utilizado en el control biológico es el 4% de las especies conocidas.



**Figura 1.** Porcentaje de productos en base a cada especie de *Trichoderma* comercializada.

Los siguientes son los datos sobre los productos a base de *Trichoderma* disponibles en el mercado mundial de los que los autores obtuvieron la información.

### *Trichoderma asperellum*

#### ASPERELLO T 34 BIOCONTROL

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* T34.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium oxysporum* en plantas ornamentales cultivadas en invernadero. Para el control de *Pythium* en cultivos protegidos de

tomate, pimienta y berenjena.

**Modo de acción:** competencia por espacio y nutrientes, inducción de resistencia en la planta y parasitismo.

**Características del agente de control biológico:** *Trichoderma* germina y crece en una amplia gama de suelos, con pH entre 6 y 8 y temperatura del suelo de 20 a 35 °C.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable a una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/g. Almacenar en un lugar fresco y seco (4 °C) durante 24 meses de vida útil.

**Método de aplicación:** por aspersión, inmersión y fumigación. Aplicar el producto a intervalos regulares de dos a tres meses durante el ciclo de cultivo. Inicie la aplicación durante la propagación de la planta.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU., Canadá, Perú, Japón, Egipto, Marruecos, Francia, Bélgica, Túnez y varios países europeos. Cuenta con certificación OMRI-CERES, ECO-CERT y Organic Farmers and Growers.

**Empresa fabricante:** Biocontrol Technologies S.L. Av. Madrid, 215-217, ent. Barcelona 08014. España. Compañía de distribución: Biobest Canada, Ltd. 2020 Fox Run Rd Leamington (Ontario) N8H 3V7, Canadá. Biobest Maroc SARL (Asperello ..., 2019).

## ECO-T

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Fusarium* y otros.

**Modo de acción:** *Trichoderma* tiene una capacidad de crecimiento rápida y eficiente para competir y desplazar los patógenos de los cultivos, además de inhibir el crecimiento de otros microorganismos mediante la liberación de compuestos inhibidores del crecimiento. Actúa como biofungicida frente a patógenos del suelo y bioestimulante favoreciendo el desarrollo de sistema de raíces de las plantas.

**Características del agente de control biológico:** el hongo ayuda a controlar las enfermedades de las raíces y promueve el crecimiento de una amplia variedad de cultivos, plantas ornamentales y eucaliptos.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^9$  conidios/g para el tratamiento de semillas de uso general y en aplicaciones dirigidas al surco de siembra o vía “*drench*”.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas y “*drench*” de plántulas en bandejas, canteros, macetas y césped en el campo. El producto debe aplicarse mensualmente después de la siembra. Para el tratamiento de semillas: maíz 1 g/kg de semilla; trigo 25 - 50 g/ha o 1 - 2 g/kg de semillas o 40 - 80 g/ha; soja 1 g/kg de semilla o 50 - 70 g/ha. Usar un adherente adecuado. Vía “*drench*”: 1 g/4 L de agua.

**Registro y comercialización del producto:** Sudáfrica (Eco - T - L7495; Eco-T Ezi-Flo - L9276). Comercializado en Kenia, Zambia, Francia, Reino Unido, Marruecos, Túnez, India y China.

**Empresa fabricante:** Plant Health Products (Pty) Ltd. Sudáfrica (Eco-T ..., 2018).

## MAZAO SUSTAIN

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* TR900.

**Uso recomendado:** registrado como biofertilizante.

**Modo de acción:** promueve el crecimiento y desarrollo de las raíces.

**Formulación y vida útil:** formulación líquida en aceite vegetal que contiene  $10^8$  UFC/mL. Vida útil de 12 meses cerrado, almacenado en lugar seco y fresco (15 a 20 °C).

**Métodos de aplicación:** vía “drench”: 200 mL/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Sudáfrica como biofertilizante.

**Compañía fabricante:** Real IPM, Kenia (Mazao ..., 2019).

## ORGAMICA F

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans* en papa; fitopatógenos que causan pudrición de la raíz; *Ascochyta pisi* y *Uromyces* sp. en guisante; *Fusarium* spp., *Ascochyta sojaecola* y *Uromyces sojae* en soja; pudriciones de la raíz; *Botrytis cinerea* y *Phytophthora infestans* en tomate en ambiente protegido; *Pseudoperonospora cubensis* y oidio en pepino en ambiente protegido.

**Modo de acción:** competencia y parasitismo.

**Características del agente de control biológico:** el aislado se desarrolla en una amplia gama de pH del suelo y es eficaz en las estaciones frías (otoño y primavera en Rusia).

**Formulación y vida útil:** líquido a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/mL. Validez hasta 10 meses entre una temperatura de 5 a 15 °C, protegido de la luz solar directa.

**Métodos de aplicación:** papa: tratamiento de tubérculos 1 - 2 días antes de la siembra, con 2,5 L/ton. para el control de *Rhizoctonia solani*. Para el control de *Phytophthora infestans*, se recomienda la primera aspersión preventiva, con 4 L/ha, en la fase de cierre de hileras y la segunda aplicación con un intervalo de 10-15 días. Guisante: tratamiento de la semilla, uno a dos días antes de la siembra, con 0,2 L/ton para controlar la pudrición de la raíz y *Ascochyta pisi*. Aspersiones (0,8 L/ha) durante el período de crecimiento para el control de *Ascochyta pisi* y *Uromyces* sp., siendo la primera aplicación al momento de la aparición de los primeros signos/síntomas de la enfermedad y la segunda con un intervalo de 10 a 15 días. Soja: tratamiento de semillas, uno a dos días antes de la siembra, con 0,2 L/ton para el control de *Fusarium* spp. y *Ascochyta sojaecola*. Aspersiones (0,8 L/ha) durante el período

de crecimiento para el control de *Ascochyta sojaecola* y *Uromyces sojae*, la primera con la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad y la segunda con un intervalo de 10 a 15 días. Tomate y pepino: tratamiento de semillas 2 a 3 días antes de la siembra con 10 mL de producto/kg de semilla para el control de la pudrición de la raíz. Para el control de *Botrytis cinerea* y *Phytophthora* infestans en tomate, *Pseudoperonospora cubensis* y oidio en pepino, aplicar durante el período de crecimiento, la primera aplicación preventiva y luego en un intervalo de 7-10 días (4 L/ha).

**Registro y comercialización de productos:** Rusia.

**Empresa fabricante:** Bionovatic. 420095, г. Казань, технополис «Химград», ул. Восстания, дом 100, здание 45, Rusia (Organica..., 2018).

## ORGANIC

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* URM5911.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani* f. sp. *Phaseoli*.

**Modo de acción:** parasitismo, competencia, antibiosis e inducción de resistencia de las plantas.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable (PM) con un mínimo de  $1 \times 10^{10}$  UFC/g.

Validez de 90 días entre 20 y 25 °C.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas a una dosis de 280 g/100 kg de semillas.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa 12616).

**Empresa fabricante:** Laboratório de Biocontrole Farroupilha Ltda. Avenida Julia Fernan-des Caixeta, 555, 38706-420. Patos de Minas, MG. Brasil (Agrofit, 2003c).

## ORGANIT STERN

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum*.

**Indicación de uso:** descomponedor de restos de cultivos.

**Modo de acción:** descomponedor de restos de cultivos y, aunque no es la función principal, actúa como parásito de hongos fitopatógenos.

**Características del agente de control biológico:** descompone los restos de cultivos, mejora la fertilidad del suelo, actúa a bajas temperaturas en otoño-invierno y aumenta la productividad de las plantas.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable a una concentración de  $1 \times 10^{10}$  UFC/g.

Validez de 12 meses entre 5 y 30 °C.

**Métodos de aplicación:** aspersión sobre los restos de cosecha del trigo de primavera o invierno, girasol y maíz (80 g/ha).

**Registro y comercialización de productos:** Rusia.

**Empresa fabricante:** Bionovatic. 420095, г. Казань, технополис “Химград”, ул. Восстания, дом100, здание 45, Rusia (Organit..., 2018).

## QUALITY

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* SF O4.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* f. sp. *Phaseoli* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Modo de acción:** parasitismo, competencia, antibiosis e inducción de resistencia de las plantas.

**Formulación:** granulado dispersable a una concentración de  $1 \times 10^{10}$  UFC/g.

**Método de aplicación:** para el control de volcamiento causados por *Rhizoctonia solani*: 200 g/100 kg de semillas. Para controlar la pudrición de la raíz causada por *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* se recomienda tratar las semillas con 100 g/100 kg de semillas. Para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* se recomiendan dos aplicaciones después de la emergencia a una dosis de 100 g/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa O8611) y Paraguay (SENAVE 5476).

**Empresa fabricante:** Laboratório de Biocontrole Farroupilha Ltda. Av. Julia Fernandes Box, 555, 38706-420. Patos de Minas, MG, Brasil (Agrofit, 2003c, Paraguay, 2019).

## T34 BIOCONTROL

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* T34

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium oxysporum* en clavel y *Pythium aphanidermatum* en tomate, pimiento, pimientos y berenjenas.

**Características del agente de control biológico y modo de acción:** la acción se debe a la colonización del sustrato y la rizosfera de las plantas y por tanto compite por espacio y nutrientes, así como por el parasitismo sobre hongos patógenos. El producto debe aplicarse de forma preventiva para proteger contra el marchitamiento por *Fusarium oxysporum* en los claveles. En tomate, pimiento, pimienta y berenjenas para la prevención de *Pythium aphanidermatum*. El producto no debe usarse en mezclas con otros pesticidas o fertilizantes líquidos.

**Formulación:** polvo mojable con  $1 \times 10^{12}$  UFC/kg.

**Métodos de aplicación:** incorporación al sustrato: mezclar 10 g de producto/m<sup>3</sup> de sustrato antes de la siembra, enraizamiento o antes de plantar. Diluir 10 g/L de agua y aplicar 0,1 L de agua/L de sustrato. Aspersión del sustrato: aplicar mediante aspersión con una

dosis de 0,5 g/m<sup>2</sup> área (5 L de solución/m<sup>2</sup>), antes o inmediatamente después de la siembra o el enraizamiento. Inmersión de raíces (solo para clavel): antes de plantar, se recomienda remojar las raíces en los propágulos durante unas horas, o durante la noche, en una suspensión de 0,01 g/L de agua. Riego en la plantación y durante todo el ciclo vegetativo: aplicar el producto mediante aspersión a dosis de 10 g/1000 macetas (1 L de sustrato/maceta) el día de la plantación, o 5 g/1000 macetas en el momento de la plantación y otros 5 g/1000 recipientes una semana después. Para los claveles, repita la misma dosis cada 2 a 3 meses, como tratamiento para el mantenimiento de la población de hongos en el sustrato y antes de una situación de riesgo o cuando las plantas están bajo estrés (diluir 10 g/L de agua y aplicar sobre 100 mL/L de sustrato).

**Registro y comercialización de productos:** Unión Europea y Reino Unido.

**Empresa fabricante:** Biocontrol Technologies S.L., Avda. Madrid 215-217, Barcelona, España. IQV Agro Portugal SA. R. Dr. Hilário Barreiro Nunes, 49, Santarém, Portugal (T34 ..., 2017; T34 ..., 2019).

## TRICHO TURBO

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* BV-10.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*.

**Modo de acción:** antibiosis, competencia, parasitismo e inducción de resistencia.

**Formulación:** concentrado emulsionable (CE) que contiene 1,0 x 10<sup>10</sup> conidios viables/mL.

**Método de aplicación:** se recomienda de 200 a 800 mL/ha. El producto debe aplicarse en la plantación mediante un chorro dirigido que cubra todo el fondo del surco de siembra y sobre los tubérculos; se debe realizar una segunda aplicación en el cuello de las plantas antes de apilarlas.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa 34018).

**Empresa fabricante:** Biovalens Ltda. Rua Manoelzinho Rodrigues da Cunha, 81, 38.059- 367 Uberaba, MG, Brasil. Vittia Fertilizantes e Biológicos Ltda. Av. Marginal Esquerda, 1000, 14.600-000. São Joaquim da Barra, SP. Brasil (Agrofit, c2003).

## TRICHODERMAX EC

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani* f. sp. *glycines* y *Rhizoctonia solani*.

**Modo de acción:** antibiosis, parasitismo, competencia e inducción de resistencia en plantas.

**Características del agente de control biológico:** además de actuar en el biocontrol, produce metabolitos que ayudan en el desarrollo de la raíz y participa en la descomposición de la materia orgánica en el suelo.

**Formulación:** concentrado emulsionable, con un mínimo de  $1,5 \times 10^9$  conidios viables/mL.

**Método de aplicación:** aplicación después de la siembra. En cultivo de soja se recomienda aplicar 1000 mL/ha para el control de *Fusarium solani* f. sp. *glycines* y *Rhizoctonia solani*. Para *Sclerotinia sclerotiorum* se recomienda aplicar 1200 mL/ha durante la etapa V3 en soja. En frijol común se recomienda la aplicación de 1000 mL/ha en la etapa V4 del cultivo para controlar *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa 12511).

**Empresa fabricante:** Novozymes Bioag Produtos para Agricultura Ltda. Calle Aristeu Luciano Adamoski, 12, 83420-000. Quatro Barras, PR. Brasil (Agrofit, 2003c).

## TRICHOTECH WP

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* aislado H22.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotinia* spp. y *Pythium* spp. y como promotor del crecimiento de la planta.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis, parasitismo y promoción del crecimiento.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable con  $4 \times 10^9$  UFC/g. Debe almacenarse en un lugar fresco y oscuro.

**Métodos de aplicación:** por goteo: 125 g/100 L de agua. Vía “*drench*” o aplicación antes del trasplante de plántulas: 125 g/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Kenia.

**Empresa fabricante:** Dudutech. Kenia (Trichotech ..., 2019).

## *Trichoderma atroviride*

### ECO-77

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride* 77.

**Enfermedades y patógenos que controla:** protección de las heridas de poda en la vid contra *Eutypa* y para la supresión de *Botrytis*.

**Modo de acción:** *Trichoderma atroviride* coloniza las heridas provocadas por la poda y evita que los patógenos, como *Botrytis*, entren en la planta. Asimismo, protege la poda de vides y otros árboles frutales, colonizando el sitio de poda y evitando la entrada de patógenos.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^9$  conidios/g de producto formulado.

**Métodos de aplicación:** aplicar 1 g/2 L de agua. Hacer una aplicación dirigida sobre las heridas inmediatamente después de la poda. Asperjar mediante una cobertura completa



cuando la enfermedad muestre los primeros síntomas. Repita la aplicación cuando sea necesario.

**Registro y comercialización de productos:** Sudáfrica (Reg. L7945). Comercializado en Sudáfrica, Zambia y Kenia.

**Empresa fabricante:** Plant Health Products Ltd. Sudáfrica (Eco-77 ..., 2018).

## ECOHOPE Y ECOHOPE-DRY

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride* SKT-1.

**Enfermedades y patógenos que controla:** enfermedades del arroz causadas por *Gibberella fujikuroi*, *Burkholderia plantarii*, *Burkholderia glumae* y *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*.

**Modo de acción:** degradación de la pared celular por la producción de enzimas.

**Características del agente de control biológico:** Se aisló *Trichoderma atroviride* SKT-1 de la rizosfera de *Zoysia japonica* (Nagayama et al., 2007).

**Formulación y vida útil:** líquido (conservar a 4 °C durante 4 meses). Formulación PM (almacenar a temperatura ambiente durante 6 meses).

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas.

**Registro y comercialización de productos:** Japón. Ecohope (21009) y Ecohope Dry (21434)

**Empresa fabricante:** Kumiai Chemical Industry Co. Ltd. Japón (Ecohope ..., 2019).

## ESQUIVE WP

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride* I-1237.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición del tallo de la vid causada por *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum* y *Fomitiporia mediterranea*. También indicado para el control de *Eutypa lata* y *Botryosphaeria* spp. (Bertsch et al., 2013).

**Modo de acción:** antagonismo, parasitismo, competencia y antibiosis.

**Características del agente de biocontrol:** limita y retrasa la progresión de patógenos presentes en la vid y contribuye a la reducción de varios síntomas de enfermedades asociadas a la pudrición del tallo.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene 10<sup>11</sup> UFC/kg. Almacenar durante seis meses a temperatura ambiente (20 °C) o durante 18 meses refrigerado (5 °C).

**Métodos de aplicación:** foliar: 4 kg/ha o 100 g/L (1 tratamiento por año). Puede también aplicar con brocha sobre las heridas de la poda.

**Registro y comercialización de productos:** Europa (Francia AMM 2080004.), Australia, Nueva Zelanda, Sudáfrica y Vietnam.

**Empresa fabricante:** Agrauxine, ZA de Troyalac'h. Sudáfrica (Esquive ..., 2018).

## LETTUCEMATE

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride*.

**Indicación de uso:** bioinoculante para cultivo de lechuga.

**Modo de acción:** promotor del crecimiento de las raíces de lechuga.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $5 \times 10^8$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** aplicar a las plántulas de lechuga 200 g/50 L entre 3 a 5 días antes plantación en campo.

**Empresa fabricante:** Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Lettucemate ..., c2016).

## PLANT HELPER

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Microdochium nivale*, *Myriosclerina borealis*, *Pythium* sp. y otros.

**Modo de acción:** crecimiento de la planta e inducción de la resistencia natural de la planta a fitopatógenos.

**Características del agente de control biológico:** *Trichoderma atroviride* fue aislado en la región subártica de Alaska, por lo que es tolerante al frío, sobreviviendo a una temperatura de 4 a 33 °C.

**Formulación:** se comercializa en líquido concentrado que contiene  $10^6$  UFC/mL y polvo mojable a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/g.

**Método de aplicación:** se puede aplicar por aspersión y con el agua de riego.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU.

**Empresas productoras:** AmPac Biotech. Fresno, CA, EE. UU. (Planta ..., 2018).

## PLANTMATE FOLIAR

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride*.

**Indicación y modo de acción:** promotor del crecimiento.

**Características del producto:** se puede aplicar con fertilizantes foliares líquidos y productos orgánicos, como extractos de algas y productos a base de pescado.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/g de producto formulado.

**Métodos de aplicación:** en cultivos en campo abierto: aplicar 500 g/ha cada 14-28 días durante el ciclo de cultivo, dependiendo del clima, las condiciones de crecimiento y el estrés de la cosecha. Cultivos de vivero y ambiente protegido: aplicar 100 g/100 L de agua cada 7-14 días durante el ciclo de cultivo dependiendo del clima, las condiciones de crecimiento y el estrés. Asegurarse de que el tanque de mezcla ha sido lavado cuidadosamente para eliminar los residuos químicos. Mezcle previamente 500 g en 10 L de agua cinco minutos antes de agregarlo al tanque de aspersión de 500 L. Mantenga una agitación constante en el tanque. La mezcla debe aplicarse el mismo día de preparación. Debe aplicarse al final de la tarde con un adherente.

**Registro y comercialización de productos:** Australia.

**Empresa fabricante:** Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Plantmate ..., 2015)

## SENTINEL

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride* LU132.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Botrytis cinerea* en cultivos de uva y tomate.

**Modo de acción:** competencia.

**Características del producto:** se puede utilizar en el manejo integrado de plagas y enfermedades, alternando con aplicaciones de fungicidas químicos.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de  $2,5 \times 10^9$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** para tomate se recomiendan 200 g/500 L de agua aplicado cada 14 a 21 días antes de la aplicación de fungicidas químicos. Para uva 200 g/300 L o 500 L de agua (66 g/100 L de agua por ha).

**Registro y comercialización de productos:** Nueva Zelanda (ACVM Act 1997 - P7235).

Certificado BioAgro Nueva Zelanda, Insumos para orgánicos 3515.

**Empresa fabricante:** Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Sentinel ..., 1997).

## TENET

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride* LU132.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición blanca de cebolla (*Sclerotium cepivorum*) y pudrición basal por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*).

**Modo de acción:** competencia.

**Características del producto:** aplicar en el surco de siembra cercano a las semillas para garantizar la actividad biológica del ingrediente.

**Formulación:** granulado conteniendo  $5 \times 10^6$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** bulbo de cebolla: 25 - 50 kg/ha. Cebollín: 25 kg/ha. Ajo: 25 - 35 kg/ha. Aplicar en el surco de siembra.

**Registro y comercialización de productos:** Nueva Zelanda (ACVM Act 1997, P7644). Certificado BioAgro Nueva Zelanda - Insumos para orgánicos 3515 C01.

Empresa fabricante: Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Tenet ..., 2013).

## TIFI POLVO

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride* MUCL45632.

**Enfermedades y patógenos que controla:** moho gris y pudrición del tallo (*Botrytis*, *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum australes*) en tomates, uvas, arándanos, manzanas y frutos de hueso.

**Modo de acción:** coloniza la rizosfera. Tiene una acción antagonista directa contra ciertos patógenos del suelo y de partes aéreas. Tiene un efecto bioestimulante al favorecer el desarrollo de la raíz y vegetativo. La producción de metabolitos secundarios estimula el sistema de defensa de la planta y promueve su desarrollo y nutrición.

**Características del agente de control biológico:** vía riego, cuando el objetivo es reducir patógenos en el suelo o vía foliar cuando el objetivo es reducir patógenos transportados por el viento, mediante nebulizador, bomba electrostática o aspersor de espalda. Durante la aplicación, agitar para mantener una suspensión homogénea. En invierno, la aplicación debe realizarse en las primeras horas de la mañana, mientras que, en verano, al final de la tarde.

**Formulación:** polvo mojable conteniendo  $2 \times 10^8$  conidios/g.

**Método de aplicación:** foliar: 3-4 g/L de agua, desde la floración hasta la precosecha. Aplicar 10 días después de la aplicación del fungicida químico. Uva y ciruela: 1 kg/ha en 50 L de agua. Manzana y frutos de hueso: 2 kg/ha en 100 L de agua. Aplicación dirigida a los cortes de poda o heridas provocadas por daños mecánicos. Aplicar 10 días después de la aplicación del fungicida químico.

**Registro y comercialización de productos:** Chile (SAG 2708).

**Empresa fabricante:** Agrotecnologías Naturales S.L., Tarragona, 43762, España (Chile, 2019; Tifi-Polvo ..., [2018]).

## TRICHODRY

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride*.

**Indicación:** bioinoculante para la promoción del crecimiento.

**Modo de acción:** estimula el crecimiento de las raíces y aumenta la asimilación y uso de micronutrientes, aumenta la resistencia a condiciones adversas.

**Formulación:** polvo mojable (PM) que contiene  $2,5 \times 10^7$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** aplicar  $1 \text{ kg/m}^3$  de sustrato de crecimiento.

**Registro y comercialización de productos:** Nueva Zelanda. Certificado Bioagro Nueva Zelanda-Insumos para productos orgánicos 3515.

**Empresa fabricante:** Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Trichodry..., 2015).

## TRICHOINPRO WP

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp.) en arroz y nematodos agalladores (*Meloidogyne* spp.) en crisantemo.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^9$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** utilizado de forma preventiva. Tratamiento de semillas  $2 \text{ kg/ton}$ . Aplicación foliar o al suelo de  $250 \text{ g/ha}$ .

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 6777).

**Empresa fabricante:** Inproarroz Ltda. Km.15 Vía Puerto López Villavicencio, Meta, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Trichoinpro, 2019).

## UNITE

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento de plántulas, causado por *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* y pudrición de la raíz, causado por *Phytophthora* spp. y *Cylindrocarpon destructans* en vides.

**Modo de acción:** competencia e inducción de resistencia.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $5 \times 10^7$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** aplicar quincenalmente  $500 \text{ g/5.000 m}^3$  de sustrato orgánico o  $500 \text{ g/1000 L}$  de sustrato inorgánico cada 10 a 14 días. En hidroponía:  $500 \text{ g/1000 L}$  cada 10 a 14 días. En plantaciones:  $750 \text{ g/ha}$  mensual. En plantaciones de vid y ornamentales:

750 g/ha 3 a 5 veces por período de cultivo. En viveros: 750 g/ha 2 a 3 veces por temporada. En plántulas y semillas: 500 g/100 L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** Nueva Zelanda (ACVM P7643). Certificado Bio-Agro Nueva Zelanda - Insumos para orgánicos 3515.

**Empresa fabricante:** Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Unite..., 2015).

## VINEVAX BIO-DOWEL y VINEVAX WOUND DRESSING

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Chondrostereum purpureum*, *Eutypa lata*, *Botryosphaeria stevensii* y *Phaeomoniella chlamydospora* en vid y frutos de hueso.

**Modo de acción:** coloniza las macetas leñosas y actúa como barrera protectora contra los fitopatógenos.

**Formulaciones:** polvo mojable y granulado a una concentración de  $5 \times 10^8$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** Vinevax Wound Dressing. Aspersión: mezclar 10 g/L de agua limpia. Premezclar el producto agregando 100 g/2 L de agua, manteniendo la consistencia hasta 10 L. Revuelva hasta que esté bien mezclado y deje reposar durante 10 minutos antes de usar. Vides: rocíe todos los cortes de poda y ramas rotas o daños por viento. Agitar con regularidad y aplicar en todas las heridas. Para obtener mejores resultados, aplicar 4-5 h después de la poda. Aplicación con brochas en huertos o plantas ornamentales: mezclar 100 g/L, agitar y dejar reposar durante 10 minutos. Use una brocha limpia para aplicar sobre la herida de la poda. Agitar con regularidad y aplicar en todas las heridas. Espere a que la savia de la superficie se haya secado antes de la aplicación.

Vinevax Bio-Dowel: aplique un gránulo por planta joven y de 2 a 3 por planta adulta de vino; frutas de hueso aplicar de 1 a 5 gránulo/planta.

**Registro y comercialización del producto:** Nueva Zelanda (ACVM P2686 y P4231). Certificado Bio-Agro Nueva Zelanda - Insumos para orgánicos 3515.

**Empresa fabricante:** Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Vinevax..., 2015).

## *Trichoderma catenulatum*

### PRESTOP y PRESTOP MIX

**Principio activo:** *Gliocladium catenulatum* J1446 (ex-*Gliocladium catenulatum*).

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Botrytis cinerea*, *Didymella bryoniae*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium*, *Fusarium* y *Phytophthora* en diferentes cultivos.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo y producción de enzimas que rompen la pared celular del patógeno.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $10^8$  UFC/g. Periodo de validez de 12 meses.

**Método de aplicación:** pulverización foliar, tratamiento del sustrato de siembra y a través del agua de riego.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU., Canadá y Unión Europea. Tiene certificación OMRI.

**Empresa fabricante:** Lallemand/Verdera Oy, P.O. Box 5, Kurjenkellontie, 5B, Finlandia. <http://www.lallemand.com/> (Prestop ..., 2007).

### *Trichoderma fertile*

#### TRICHOPLUS TM

**Principio activo:** *Trichoderma fertile* JM41R.

**Enfermedades y patógenos que controla:** enfermedades de las raíces causadas por *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Sclerotinia* spp. y *Phytophthora* y también para estimular el crecimiento de las plantas.

**Modo de acción:** inhibe el crecimiento y la actividad de los patógenos, estimula los mecanismos de defensa en las plantas, la capacidad de colonizar la rizosfera y favorece el crecimiento de las plantas.

**Características del agente de control biológico:** es una cepa local adecuada para las condiciones sudafricanas.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^9$  conidios/g. Debe conservarse a 4 °C.

**Métodos de aplicación:** mezclar 250 g/1000 L de agua (dejar reposar la suspensión durante 20 minutos). Este volumen es para tratar 1 ha o 3000 bandejas.

**Registro y comercialización de productos:** Sudáfrica (Reg. L7161).

**Empresa fabricante:** Basf South Africa (Trichoplus, 2018).

### *Trichoderma harzianum*

#### AGRODERMA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotium rolfsii* en varios cultivos anuales y perennes.

**Formulación:** líquida que contiene  $1 \times 10^8$  conidios/mL y otros inertes, como carbohidratos y aminoácidos.

**Registro y comercialización del producto:** EE. UU., donde está certificado por el Instituto de Revisión de Materiales - OMRI y puede usarse en agricultura orgánica. La empresa también opera en Chile, Perú, Colombia y México (Agroderma ..., 2018).

**Empresa fabricante:** Gruindag International, S.A. de C.V. Calle Allende s/n, lote 2, Manzana 13, Parque Industrial Cuautla, Villa Ayala, Morelos, México. (Agroderma ..., 2018).

### AGROINT-T

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* en el arroz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^9$  conidios viables/g.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 7384).

**Empresa fabricante:** Edgar Yamil Acosta López - Agroinsumos Biológicos - Carrera 11 N.7-27 De Villanueva/Casanare, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

### ANTAGON WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* en el arroz; moho blanco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum* en frijoles; marchitez por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*) y pudrición por *Fusarium* (*Fusarium roseum*) en clavel.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^7$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** en el surco de siembra, líquido, a través de abejas, pasta de poda y tratamiento de semillas.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 4778).

**Empresa fabricante:** Bioecológicas S.A.S. Avenida 116, 54-90 - Barrio Alhambra, Bogotá, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Perú, 2019).

### BIO-T

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* spp. en arroz.



**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** concentrado soluble que contiene  $3 \times 10^7$  UFC/mL.

**Método de aplicación:** se aplica dependiendo del estado fenológico del cultivo y los periodos críticos en sistemas de riego por goteo, aspersión y gravedad. Aplicaciones en las semillas después de la germinación. El antagonista, además de incorporarse al suelo, tanto con materia orgánica como asperjado directamente, también puede ser inoculado en la semilla para que se establezca y multiplique en las raíces, evitando enfermedades radiculares.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 9413).

**Empresa fabricante:** P.L.A. Biológico - Carrera 48 Sur 117-78 (Vía Panamericana a Bogotá), Ibagué, Tolima, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## BIO-TRICHO

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* SF.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Botrytis* y enfermedades de la raíz causadas por *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Fusarium*, etc., en diversos cultivos.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^9$  conidios/g. Conservar en nevera (4 °C). Periodo de validez superior a 12 meses.

**Métodos de aplicación:** tratamiento del suelo o semillas 40 g/10 L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** Sudáfrica.

**Empresa fabricante:** Agro-Organics (Pty) Ltd. (Bio-Tricho ..., 2018).

## BIOBEN

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Sclerotinia* sp., *Sclerotium* sp., *Fusarium* sp., *Verticillium* sp., etc.

**Modo de acción:** parasitismo, estimula a la planta a producir fitoalexinas como mecanismo de defensa; produce sustancias que previenen y/o limitan el desarrollo del patógeno y produce sustancias que activan la producción de hormonas y el crecimiento de la raíz, facilitando la absorción de nutrientes por parte de la planta (Bioben..., 2018).

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^7$  UFC/g.

**Método de aplicación:** 200 - 800 g/ha.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU. Certificado por OMRI-CERES (Bioben ..., 2018).

**Empresa fabricante:** Agrícola Innovación S.A. de C.V. Av. Central 206 3er Piso Col. San Pedro de los Pinos. Ciudad de México, MX 01180 (Bioben ..., 2018).

## BIODERMA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium ultimum*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Botrytis* sp.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis, parasitismo y promoción del crecimiento.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de  $1 \times 10^{10}$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas a una concentración de 4 g/kg de semilla y directamente al suelo a una concentración de 2,5 kg/ha. Se puede rociar sobre las hojas a una concentración de 2,5 kg/ha. No debe aplicarse con bactericidas. Aplicar cada 30 días de 50 a 100 g/ha o 0,25 g/L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 6301).

**Empresa fabricante:** Ideas Biológicas. Valle do Aburra. Colombia (Bioderma..., 2017; Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## BIOFLOWER TRICODERMA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz o enfermedades fúngicas que causan marchitamiento y afectan el desarrollo de frutos, hortalizas y plantas ornamentales y césped.

**Modo de acción:** antagonismo.

**Formulación:** *Trichoderma harzianum* en sobres. Caja con 3 sobres de 4 g/unidad.

**Métodos de aplicación:** plántulas: aplicar 4 - 8 g (1 - 2 sobres/L de agua. Utilice aproximadamente 1 L/3 m. Macetas: 4 - 8 g (1 - 2 sobres/L de agua. Aplicar 150-250 mL/maceta de 10-20 cm de diámetro. Trasplante: 4 - 8 g (1 - 2 sobres/L de agua. Aplicar 150 - 250 mL/planta en el momento del trasplante. Se debe realizar un mantenimiento de los cultivos para asegurar una mínima población de *Trichoderma* en el suelo o sustrato, para ello se recomienda aplicar de 2 a 4 g/L de agua cada 30 días.

**Registro y comercialización de productos:** España.

**Empresa fabricante:** BioFlower, España (Bioflower, 2019c).

## BIOFUNGO WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* OBTH15.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Pyricularia oryzae* (arroz), *Botrytis cinerea*, *Phytophthora* sp. y *Sphaeroteca pannosa* (rosas).

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Métodos de aplicación:** aspersión en prefloración cada 15 días a una dosis de 300 g/ha. En arroz aplicar durante el macollamiento y prefloración rociando a una dosis de 300 g/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 4678).

**Empresa fabricante:** Orius Biotech, Colombia (Biofungo ..., 2017; Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## BIOHARZ

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Sclerotium*, *Verticillium*, *Alternaria* y *Botrytis cinerea*.

**Modo de acción:** parasitismo y promoción del crecimiento.

**Formulación:** suspensión que contiene  $2 \times 10^8$  UFC/mL.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: aplicar 5 - 10 mL/50 mL de agua en 1 kg de semilla. Tratamiento de plántulas: 250 mL/50 L de agua y sumergir las raíces de las plántulas durante media hora en la suspensión y trasplantar inmediatamente. Vía "drench": 750 - 1000 mL/100 L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** International Panaacea Ltd. India (Bioharz ..., 2018).

## BIOPONIC MIX BM

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium* y *Pythium*.

**Modo de acción:** competencia y promoción del crecimiento. **Formulación:** polvo mojable.

**Métodos de aplicación:** mezclar 1 g/10 L de agua y aplicar al suelo. Repetir cada 6 o 8 semanas.

**Registro y comercialización de productos:** España.

**Empresa fabricante:** GHE - General Hydroponics Europe. Biopole 32500 Fleurance, Francia (Bioponic ..., 2019).

## BIOREGULAX WP

**Ingrediente activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento, causado por *Rhizoctonia solani* en arroz y moho blanco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* en crisantemo.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Métodos de aplicación:** aspersión en prefloración de las plantas cada 15 días en dosis de 300 g/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 4677).

**Empresa fabricante:** Orbiotec S.A. Carrera 23, 5-86, Villavicencio, Departamento del Meta, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## BIOTRICO-H

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis, parasitismo e inducción de resistencia de la planta.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU., con certificación OMRI.

**Empresa fabricante:** Sagana Agrobiológicos. Costerita, 1900 Orilla de Carretera Km 3 Col. El Ranchito Culiacán, Sinaloa 80309 (Biotricho-H ..., 2018).

## BLINDER SC MYCROS

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* BTH003.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* en arroz y moho gris causado por *Botrytis cinerea* en fresa, rosa y tomillo.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo, estimula la defensa de la planta y solubiliza fosfatos.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene  $5 \times 10^8$  conidios viables/mL.

**Método de aplicación:** foliar o al suelo.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 7669).

**Empresa fabricante:** Mycros Internacional S.A.S - Place Km 1.3, vía Parcelas de Cota Bod. 14 Bodega Aepi PH, Cota, Cundinamarca, Colombia (Blinder..., 2016; Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## COMMANDER

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** nematodos y marchitez causada por *Fusarium* spp.

**Modo de acción:** parasitismo y competencia.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de 1%.

**Métodos de aplicación:** suelo 1 kg/0,5 ha. Foliar: 2 g/L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** India

**Empresa fabricante:** H. T. C. Impex Private Ltd. India (Commander ..., 2019).

## DAYTONA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* ESALQ-1306.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pratylenchus zeae* y *Thielaviopsis paradoxa*.

**Modo de acción:** parasitismo.

**Formulación:** suspensión concentrada (SC) con al menos  $2,0 \times 10^9$  conidios viables /mL.

**Método de aplicación:** *Fusarium*: 800 - 1000 mL/ha aplicados con aspersor en el surco de siembra. Para *Rhizoctonia*: 1000 mL/ha en aplicación foliar (para fresa de 2 a 7 aplicaciones en intervalos de 20 a 50 días desde el trasplante). *Sclerotinia*: dos aspersiones (V3 y V5 en soja) con una dosis de 500 - 1000 mL/ha. *Pratylenchus*: aplicación en el surco de siembra (1000 mL/ha) en caña de azúcar. *Thielaviopsis paradoxa*: 1000 - 2500 mL/ha asperjado en el surco de siembra de caña de azúcar.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa 19318).

**Empresa fabricante:** Koppert Brasil Holding Ltda. Carretera SP-135, km 17.5, 13420-280, Piracicaba/SP, Brasil. (Agrofit, 2003c).

## ECOGOLD TRICHA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* NBRI-1055.

**Enfermedades y patógenos que controla:** enfermedades de la raíz causadas por *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Pythium*.

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis y promotor del crecimiento.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable con  $2 \times 10^6$  UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 5 - 10 g/25 mL de agua para 1 kg de semilla. Plántulas: 10 g/L de agua y sumergir las raíces durante 30 minutos antes del trasplante en el campo. Aplicación al suelo: mezclar 1 kg/25 kg de estiércol en 4000 m<sup>2</sup>. Aplicación foliar: 1 kg/100 L agua aplicado en las hojas.

Registro y comercialización del producto: **India**.

**Empresa fabricante:** Metro Exporters PVT. Ltd. India (Ecogold..., 2019).

## TRICHA ECOGOLD

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* NBRI-1055.

**Enfermedades y patógenos que controla:** enfermedades de las raíces causadas por *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Pythium*.

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis y promoción del crecimiento.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^6$  UFC/g. Periodo de validez: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 5 - 10 g/25 mL de agua por 1 kg de semilla. Plántulas: 10 g/L de agua y remojar las raíces durante 30 minutos antes de trasplantar en el campo. Aplicación al suelo: mezclar 1 kg/25 kg de estiércol por 4000 m<sup>2</sup>. Aplicación foliar: 1 kg/100 L de agua, aplicado sobre las hojas.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Metro Exporters PVT. Ltd. India (Ecogold..., 2019).

## ECOSOM - TH

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Botrytis cinerea* y nematodos.

**Modo de acción:** competencia por el espacio y los nutrientes, parasitismo, producción de enzimas degradantes, estimula el crecimiento y produce toxinas que tienen acción nematocida.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^6$  UFC/g. Periodo de validez: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** foliar: 10 g/500 mL de agua. Goteo: 3-5 kg/50 L de agua. Aplicación al suelo como bionematicida: 50 - 150 kg/ha aplicado en el área radicular. Inmersión de raíces: sumerja las raíces de la planta en una suspensión que contenga 10 g/L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Agri Life. India (Ecosom ..., 2019)

## ECOTRICH

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* IBLFOO6.

**Enfermedades y patógenos que controla:** recomendado en Brasil para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* y *Rhizoctonia solani*; en Paraguay se recomienda para el control del volcamiento causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Macrophomina phaseolina* y *Pythium* spp. en soja y para el control de la pudrición de la raíz causada por *Pythium* spp., *Fusarium* spp. *Macrophomina* spp. en maíz; en Bolivia se recomienda para el control de *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani* que causan volcamiento en la soja.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo y antibiosis.

**Características del agente de control biológico:** sobrevive a diferentes condiciones ambientales.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable (PM) a una concentración de  $1 \times 10^{10}$  UFC/g. Validez de 11 meses a 20 °C.

**Método de aplicación:** soja: aplicar 40 - 60 g/100 kg de semillas para controlar *Rhizoctonia solani*; para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* aplicar 200 - 250 g/ha en la etapa V5. Lechuga: 150 g/ha inmediatamente después del trasplante de plántulas.

**Registro y comercialización del producto:** Brasil (Mapa O4213), Paraguay (SENAVE 4848) y Bolivia (SENASAG 3948).

**Empresa fabricante:** Ballagro Agro Tecnologia Ltda. Carretera Municipal Carlos Gebim, 2353, 12955-000. Bom Jesus dos Perdões/SP. Brasil (Agrofit, 2003c; Paraguay, 2019).

## EMERALD AVANI

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Phytophthora*, *Fusarium* y *Pythium*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Macrophomina*, *Myrothecium*, *Ralstonia*, enfermedades bacterianas y fúngicas del algodón, cereales, legumbres, hortalizas, oleaginosas, frutales y floricultura.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis y parasitismo.

**Características del agente de control biológico:** los metabolitos estimulan la germinación de las semillas, el crecimiento de las plantas y la formación inicial de las flores.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Emerald Bio. India (Emerald ..., 2019).

## FITOBAC

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* en crisantemo.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas: 20-30 g/100 kg de semillas. Tratamiento del suelo: 20 - 30 g/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 6379).

**Empresa fabricante:** Organización Pajonales SA. Carrera 65C 32B-13, Medellín, Antioquia, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## FOLIGUARD SC

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Botrytis cinerea* causante de moho gris en los rosales. Control de *Leveillula taurica*, *Stemphylium versicarium*, *Uncinula necator*,

*Botrytis cinerea* y *Peronospora destructor*.

**Características del producto:** inhibe la germinación de conidios y el crecimiento de fitopatógenos.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene  $5 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** aplicar en la parte aérea de la planta (tallo, hojas, flores y frutos) mediante nebulización con alta turbulencia para garantizar la cobertura. Se recomienda aplicar, preferentemente, de forma preventiva o al inicio de la aparición de la enfermedad en la dosis de 750 mL/ha o 200 - 300 mL/100 L. Ají, espárragos, uva, alcachofa, aguacate y cebolla: aplicar 200 - 300 mL/100 L. Mildiú polvoriento de la vid: 750 mL/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 6014) y Perú (SENASA PBUA 159).

**Empresa fabricante:** Live System Technology S.A. Calle 126 11 B-9, Bogotá, Colombia. Farmago SA. Av. Alfredo Mendiola, Auxiliar Panamericana Nte. 6068, Los Olivos 15314, Perú (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Perú, 2019).

## FRAGATA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición causada por *Fusarium oxysporum* en tomate, berenjena, tabaco y ají.

**Modo de acción:** parasitismo, competencia por nutrientes y antibiosis.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^9$  UFC/g.

**Método de aplicación:** foliar junto con coadyuvante.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU.

**Empresa fabricante:** Química Agronómica de México S. de R.L. de C.V. Calle 18, 20501 Colonia Impulso Chihuahua, Chihuahua 31183, México (Fragata ..., 2016).

## FUNGIGRASP WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Sclerotinia* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp. causantes de volcamiento en cultivos de soja y tomate.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^8$  UFC/g.

**Método de aplicación:** en pretrasplante y ocho días después del trasplante (250 - 500 g/ha).

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 8069) y Bolivia (SENASAG 3601).



**Empresa fabricante:** Core Biotechnology. Av.4 Norte, 8N-67, Cali, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

### GLIOCLADIN TAB

**La sustancia activa:** *Trichoderma harzianum* (18 ВИЗР).

**Enfermedades y patógenos que controla:** fitopatógenos causantes de la pudrición de la raíz y del cuello en pepino, tomate y flores.

**Formulación y vida útil:** tableta o pastilla que contiene  $10^9$  UFC/g. Validez de hasta dos años a una temperatura entre -30 a 30 °C.

**Métodos de aplicación:** tomate y pepino: coloque 1 tableta/hoyo a una profundidad de al menos 1 cm, al momento de la siembra/trasplante de plántulas. Flores: coloque 1 tableta/300 mL de tierra al momento de la siembra o trasplante de plántulas.

**Registro y comercialización de productos:** Rusia. Certificado de registro 1596-09-307-214-0-0-3-1.

**Empresa fabricante:** АгроБиоТехнология - Agrobiotecnología LLC. 125212, Moscú, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4. (Gliocladin ..., 2018c).

### GLIOCLADIN SK

**La sustancia activa:** *Trichoderma harzianum* (18 ВИЗР).

**Enfermedades y patógenos que controla:** fitopatógenos que provocan pudrición de raíces y cuello, además del marchitamiento por *Fusarium* sp. en tomate y pepino.

**Características del agente de control biológico:** promotor del crecimiento de plantas.

**Formulación y vida útil:** suspensión concentrada que contiene  $10^{10}$  UFC/g. Validez de hasta tres meses a una temperatura entre 2 - 8 °C.

**Métodos de aplicación:** vía “drench” a dosis de 140 mL/ha o asperjando en el suelo. Una semana después de la vaporización del suelo, aplicar el producto a una profundidad de 20 - 35 cm, con el objetivo de que *Trichoderma* ocupe el vacío microbiano. Durante la época de crecimiento, aplique el producto dos o tres veces.

**Registro y comercialización de productos:** Rusia. Certificado de registro 1448-09-107-214-0-0-0-0.

**Empresa fabricante:** АгроБиоТехнология - Agrobiotecnología LLC. 125212, Moscú, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4. (Gliocladin ..., 2018a).

### GLIOCLADIN SP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* (18 ВИЗР).

**Enfermedades y patógenos que controla:** fitopatógenos que provocan la pudrición de la raíz y del cuello.

**Modo de acción:** inhibe el desarrollo del patógeno.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $10^{10}$  UFC/g. Validez de dos años a -30 a 30 °C.

**Métodos de aplicación:** vía “drench” a dosis de 60 g/ha o asperjando en el suelo. Una semana después de la vaporización del suelo, aplicar el producto a una profundidad de 20-35 cm, con el objetivo de que *Trichoderma* ocupe el vacío microbiano. Durante la temporada de crecimiento, aplique el producto dos o tres veces.

**Registro y comercialización de productos: Rusia.** Certificado de registro 2120-10-307-214 (434) -0-0-3-0.

**Empresa fabricante:** АгроБиоТехнология. Agrobiotechnology LLC.125212, Moscú cou, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4, Rusia (Gliocladin ..., 2018b).

## GROW-BOOST

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* T-22.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Pythium* e *Fusarium*.

**Modo de acción:** promueve el crecimiento de las raíces y la absorción de agua y nutrientes por parte de la planta.

**Métodos de aplicación:** un paquete/40 bandejas de producción de plántulas o 20m<sup>2</sup> de área de cultivo. Disolver el contenido del paquete de 20 g en agua, aplique sobre las bandejas de semillas o plántulas con una regadera. Ideal para la propagación exitosa de semillas o esquejes, bandejas, macetas, contenedores y canteros elevados y para su aplicación en semilleros o trasplante. Repetir las aplicaciones cada 10 a 12 semanas. Se puede utilizar en el cultivo de legumbres, lechugas, hierbas, frutos rojos, bulbos, plantas ornamentales y perennes.

**Registro e comercialización del producto:** Reino Unido.

**Empresa fabricante:** Dragonfli, Unit 4 Rippers Court, Sible Hedingham, Halstead Essex, CO9 3PY. United Kingdom (Grow-boost..., 2019).

## HARZINA GOLD

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** protege las semillas y los brotes del ataque de patógenos habitantes del suelo.

**Modo de acción:** promotor de crecimiento y competencia.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de 1%.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Super Agro (I) Pvt. Ltd. India (Harzina ..., 2019).

## HARZTOP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** moho gris, volcamiento, pudrición de la raíz causada por *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp. en uva, arándano, fresa, frambuesa, tomate, lechuga, perejil, pimiento, melocotón, nectarina, ciruela, albaricoque, almendra, nuez, limón, naranja, aceituna, aguacate, trigo, avena, cebada, maíz y manzana.

**Modo de acción:** inhibe el crecimiento de fitopatógenos, competencia por espacio y nutrientes, producción de metabolitos que inducen resistencia sistémica adquirida en la planta, generación de otros metabolitos de tipo antibiótico y parasitismo.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene  $1 \times 10^8$  conidios/mL.

**Métodos de aplicación:** utilizar 1 - 2 L/ha, con aspersión foliar al inicio y final de la floración y durante la formación del fruto. Utilizar 100 mL/100L aplicado con el riego durante la siembra o el trasplante.

**Registro y comercialización de productos:** Chile (SAG 2738).

**Empresa fabricante:** Biogram SA. Los Canteros, 8534, La Reina, Santiago, Chile (Harztop, 2014; Chile, 2019).

## HASIRU FRESH TRICHODERMA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo, marchitez vascular y pudrición de la raíz.

**Modo de acción:** antibiosis, inducción de resistencia en la planta y parasitismo.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Hasiru Organics. India (Hasiru ..., 2019a).

## HULKGREEN

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Puccinia* y *Peronospora*.

**Modo de acción:** inhibe el crecimiento de patógenos, inducción de resistencia, promotor del crecimiento, competencia, parasitismo y antibiosis.

**Formulación:** suspensión concentrada de conidios.

**Registro y comercialización de productos:** Argentina (SENASA 39751).

**Empresa fabricante:** Agro Advance Technology SA. Fátima, Buenos Aires, Argentina (Argentina, 2019a; 2019b).

## LABRADOR

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*, *Pythium*, *Fusarium*, *Cylindrocladium*, *Thielaviopsis*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pyrenochaeta terrestris* y *Phytophthora cinnamomi* en fresa, arándano, cebolla, aguacate, nuez y otros.

**Modo de acción:** parasita hifas, esclerocios y conidios de hongos. Produce metabolitos que inhiben la germinación, el desarrollo y la formación de micelio. Induce el sistema de defensa de la planta, estimulando la producción de fitoalexinas. Además, produce auxina que favorece el crecimiento de las raíces y facilita la absorción de nutrientes.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1,1 \times 10^7$  UFC/g.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas, en la propagación de hortalizas en bandeja y tratamientos de esquejes por inmersión. El producto debe diluirse en agua. No aplicar en días con altas temperaturas, baja humedad relativa y alta luminosidad. No exponer el producto a una temperatura superior a 40 °C durante más de 30 días.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU. Tiene certificación OMRI (Labrador ..., 2018).

**Empresa fabricante:** Agroquímicos Versa S.A. de C.V. Planta industrial: Alfonso Gómez Torres, 160. CP 27019 Torreón, Coahuila, México (Labrador ..., 2018).

## LYCOMAX

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Fusarium*.

**Modo de acción:** controla las enfermedades de plantas causadas por hongos y promueve el crecimiento de las plantas.

**Formulación:** granulado o polvo.

**Métodos de aplicación:** en el sistema de riego o directamente sobre la superficie de la planta.

**Registro y comercialización de productos:** Reino Unido.

**Empresa fabricante:** Russell IPM. Reino Unido. <http://russellipm-agriculture.com/lycomax-3/>. Consultado en: 22 sep. 2018 (Fraceto et al., 2018).

## MAJESTIC

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* IBLFOO6.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo y antibiosis.

**Formulaciones disponibles:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^{10}$  UFC/g.

**Método de aplicación:** en el surco de siembra para el control de *Rhizoctonia solani* (500 g/ha). Para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* se recomienda su aplicación al suelo (300 g/ha) inmediatamente después del trasplante y vía foliar (500 g/ha) en el cultivo de soja durante la etapa V4.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa 24318).

**Empresa fabricante:** Ballagro Agro Tecnología Ltda. Carretera Municipal Carlos Gebim,

2353, 12955-000. Bom Jesus dos Perdões/SP, Brasil (Agrofit, c2003).

## NATIBIOL

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^7$  UFC/g.

**Método de aplicación:** vía “drench” o en el sistema de riego después del trasplante. Se recomienda repetir la aplicación cada 7 a 20 días. Utilizar la dosis de 60 - 120 g/L de agua vía “drench” o 400 - 800 g/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Venezuela.

**Empresa fabricante:** Probiagro SA. Acarigua, Venezuela (Bettiol et al., 2012).

## NATUCONTROL

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia* sp. y *Phytophthora cinnamomi* en cultivos de tomate, lechuga, aguacate, fresa, frambuesa y grosella.

**Modo de acción:** parasitismo, inducción de resistencia, antibiosis y promotor del crecimiento.

**Características del agente de control biológico:** protege a las plantas de las enfermedades de la raíz provocadas por fitopatógenos, actuando como defensa durante todo el ciclo de cultivo.

**Formulación:** polvo mojable.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU. tiene certificación OMRI. La empresa está ubicada en diferentes países, como Estados Unidos, México, Guatemala, Panamá, Colombia, Nicaragua, Ecuador, Perú y Brasil.

**Empresa fabricante:** Biokrone, USA (Natucontrol..., 2019).

## NATUCONTROL MEZFER

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* spp. en arroz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^7$  UFC/g.

**Método de aplicación:** vía “*drench*” o en el sistema de riego después del trasplante. Se recomienda hacer otras aplicaciones cada 7 a 20 días. Utilizar la dosis de 60 - 120 g/L de agua vía “*drench*” o 400 - 800 g/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 10490).

**Empresa fabricante:** Mezfer de Colombia Ltda. Edificio OXXO Vía Chía-Cajicá, Cundinamarca, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## OCTANE

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* ESALQ-1306.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pratylenchus zeae* y *Thielaviopsis paradoxa*.

**Modo de acción:** parasitismo.

**Formulación:** suspensión concentrada con  $2,0 \times 10^9$  conidios viables/mL.

**Método de aplicación:** *Fusarium*: 800 - 1000 mL/ha asperjados en el surco de siembra. Para *Rhizoctonia*: 1000 mL/ha en aplicación foliar (para fresa de 2 a 7 aplicaciones en intervalos de 20 a 50 días desde el trasplante). *Sclerotinia*: dos aspersiones (V3 y V5 en soja) con una dosis de 500 - 1000 mL/ha. *Pratylenchus*: aplicación en el surco de siembra (1000 mL/ha) en caña de azúcar. *Thielaviopsis paradoxa*: 1000 - 2500 mL/ha asperjado en el surco de siembra de caña de azúcar.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa 22318).

**Empresa fabricante:** Koppert Brasil Holding LTDA. Rod. SP-135, km 17,5, 13420-280. Piracicaba/SP, Brasil (Agrofit, 2003c).

**PEAK TRICO-H**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz, marchitez por *Fusarium*, *Ganoderma*, etc.

**Modo de acción:** parasitismo y antibiosis.

**Formulación:** líquido soluble que contiene  $1 \times 10^9$  UFC/mL.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 20 mL/500 mL de agua y cubrir las semillas para 0,5 ha. Foliar: 20 mL/100 L de agua/0,5 ha. Aplicación al suelo: 250 mL/20 kg de residuos agrícolas. Plántulas: 50 mL/100 L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Peak Group. India (Peak ..., 2019b).

**PHC T-22**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* cepa T-22 (KRL-AG2).

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Fusarium* sp., en cucurbitáceas; raíz roja causada por *Pyrenochaeta terrestris* en cebolla y cebollín; pudrición de la raíz causada por *Fusarium* sp. en fresa, frambuesa, tabaco, patata y otros cultivos.

**Modo de acción:** inhibe el crecimiento de patógenos del suelo, compite en el suelo formando una protección alrededor del sistema radical. También actúa por parasitismo.

**Características del agente de control biológico:** *Trichoderma harzianum* cepa T-22 fue desarrollada por la Universidad de Cornell cruzando dos cepas de *Trichoderma harzianum* de regiones y climas contrastantes. La cepa se adapta a una amplia gama de especies de plantas; suelos arcillosos y arenosos; clima templado a tropical y un rango de pH que va de 4 a 8.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^7$  UFC/g. Cuando se almacena a baja temperatura, la vida útil es de 24 meses.

**Método de aplicación:** aplicado al suelo, en tratamiento de semillas y asperjado.

**Registro y comercialización de productos:** Estados Unidos y México.

**Empresa fabricante:** Plant Health Care de México, S. de R.L. de C.V. Av. Ceylan, 959, Bodega 26. Col. Industrial Vallejo. Ciudad de México, México 02300 (PHC, 2018).

**PHC Planter Box**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* KRL - AG 2 (cepa T-22).

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Cylindrocladium*, *Thielaviopsis* y *Sclerotinia*.

**Modo de acción:** competencia y parasitismo.

**Características del agente de control biológico:** la cepa fue desarrollada por la Universidad de Cornell cruzando cepas de *Trichoderma* de regiones de suelo y clima contrastantes.

**Formulación y vida útil:** el producto contiene  $1 \times 10^7$  UFC/g. Al almacenar a bajas temperaturas, la viabilidad puede extenderse entre 8 y 12 meses.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas o sobre el sustrato de cultivo.

**Registro y comercialización de productos:** Estados Unidos y México. El producto está certificado por OMRI y patentado: Patente de EE. UU. 5,260,213 (PHC, 2018).

**Empresa fabricante:** Plant Health Care de México, S. de R.L. de C.V. Av. Ceylan, 959, Bodega 26. Col. Industrial Vallejo. Ciudad de México, México 02300. BioWorks, Inc., 100 Rawson Rd, Suite 205 Victor, Nueva York 14564. Sitio web: <http://www.bioworksinc.com/index.html>.

## PLANT BOOST

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* T-22.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo.

**Modo de acción:** mayor desarrollo de las raíces de la planta, mayor rendimiento de hortalizas y frutales y mejor establecimiento de la planta después de la siembra.

**Características del agente de control biológico:** favorece el crecimiento, estimula el crecimiento de las raíces y aumenta la absorción de nutrientes y agua.

**Formulación:** granulado que contiene 40 g de *Trichoderma harzianum* T-22.

**Métodos de aplicación:** mezclar los gránulos con el sustrato antes de la siembra (10 g/10 L de sustrato). Los gránulos también se pueden colocar en los hoyos de siembra para asegurar que los gránulos entren en contacto con las raíces. Repita tres meses después de la siembra.

**Registro y comercialización de productos:** Reino Unido.

**Empresa fabricante:** Dragonfli, Unit 4 Rippers Court, Sible Hedingham, Halstead Essex, CO9 3PY. Reino Unido (Plant-Boost ..., 2019).

## PLANTMATE GRANULAR

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Indicación:** utilizado en cultivos a campo abierto, bulbos y tubérculos, huertas, viñedos y sustrato para producción de semillas. Debe aplicarse en el surco de plantación de árboles, enredaderas y semillas. El organismo estimula el desarrollo de la raíz.

**Características del producto:** granulado para aplicación en las zonas de la raíz, recomendado para todas las plantas.



**Formulación:** *Trichoderma harzianum* 1 x 10<sup>6</sup> UFC/g formulado en una matriz de colonización específica.

**Métodos de aplicación:** cultivos a campo abierto: aplicar de 10 a 25 kg/ha en el surco de siembra. Si la semilla es de tamaño similar al gránulo, la semilla se puede mezclar con el gránulo antes de sembrar. Alternativamente, el producto debe aplicarse en el surco a la misma profundidad que la semilla utilizando otro depósito adherido a la sembradora. Bulbos de flores y tubérculos: aplicar 1 kg/100 m<sup>2</sup> directamente alrededor de los bulbos o tubérculos al plantar. Asegúrese de que los gránulos estén cubiertos por el suelo. Semilleros: aplicar 1 kg/20 m<sup>2</sup> y mezclar con los 5 cm superiores del perfil del suelo para preparar el lugar de siembra. Asegúrese de que los gránulos estén cubiertos por el suelo. Huertos y viñedos: aplicar de 5 a 25 g de producto en el fondo del hoyo de plantaciones de árboles y vides.

**Registro y comercialización de productos:** Australia.

**Empresa fabricante:** Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Road PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Plantmate ..., 2014).

## PLANTSHIELD HC

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* T-22.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición causada por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Cylindrocladium* y *Thielaviopsis* en Cucurbitáceas (pepino, melón, calabaza, etc.); flores y plantas ornamentales; hortalizas (berenjena, tomate, ají, rúcula, apio, escarola, lechuga, repollo, acelga, mostaza, repollo, etc.); hierbas, especias y menta; cultivos hidropónicos (pepino, tomate, lechuga, hierbas y especias); frutas de clima templado (pera, membrillo); cultivos de vivero (arce, roble, uva, pino, etc.); frutas de hueso (albaricoque, cereza, melocotón, ciruela, nectarina) y almendra, nuez, castaña, macadamia, pistacho, etc.

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis, competencia, solubilización de nutrientes inorgánicos para la absorción vía raíz, inducción de resistencia e inactivación de enzimas patógenas involucradas en el proceso de infección (Paulitz; Bélanger, 2001).

**Características del agente de control biológico:** *Trichoderma harzianum* KR-L-AG2 (T-22) es el resultado de la fusión de protoplasmas entre los aislados de *Trichoderma harzianum* T-95 (que tiene competencia en la rizosfera) y el aislado T-12. El aislado T-22 coloniza todo el sistema de la raíz y persiste durante un largo período cuando se aplica como tratamiento en semillas (Paulitz; Bélanger, 2001). Brinda protección a las plantas contra los patógenos del suelo. El hongo crece a pH de 4 a 8 y una temperatura de 8,9 a 36 °C. Se alimenta de los nutrientes liberados por la raíz, eliminando el suministro para el patógeno. No

causa daños a la salud humana, animal y vegetal (Plantshield ..., 2018).

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^7$  UFC/g. La vida útil es de seis meses cuando se almacena entre 10 y 25 °C, nueve meses entre 0 -10 °C y 12 meses por debajo de 0 °C.

**Método de aplicación:** en el suelo o en la parte aérea de la planta.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU.

**Empresa fabricante:** BioWorks, 100 Rawson Rd, Suite 205 Victor, Nueva York 14564, EE. UU. (Plantshield ..., 2018).

## PREDATOX

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* IBLFO06.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Modo de acción:** fungicida microbiológico de contacto.

**Formulación y vida útil:** suspensión concentrada (SC) con  $2 \times 10^8$  UFC/mL. Validez de seis meses a una temperatura inferior a 22 °C.

**Método de aplicación:** para el control de *Rhizoctonia solani* en frijol común: 1 L/ha aplicado en el surco de siembra. Para el control de *Sclerotinia sclerotiorum*: 1.0 - 1.5 L/ha para cultivo de lechuga, inmediatamente después de trasplantar las plántulas en campo, en aplicación dirigida al suelo. Para cultivo de soja: aplicación en la etapa V4 de 1,0 – 2,5 L/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa O5015).

**Empresa fabricante:** Ballagro Agro Tecnologia Ltda. Carretera Municipal Carlos Gebim, 2353. 12955-000, Bom Jesus dos Perdões/SP, Brasil (Agrofit, 2003c).

## PRQRECTOR WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos del suelo, volcamiento, pudrición del tallo y raíz causada por *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp., *Fusarium* sp., *Sclerotinia* sp., *Botrytis* sp. en semillas de tomate, café, plátanos, flores, arroz, hortalizas y tomates, caña de azúcar, papa, maíz, soja, sorgo, tabaco, piña, melón, sandía y romero, tomillo, orégano, vainilla, estragón y hortalizas.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de  $2 \times 10^8$  UFC/g.

**Método de aplicación:** aplicación al suelo antes y después de la siembra: 1 - 2 g/L de agua. Vía “drench”: 0,5 - 0,8 g/m<sup>2</sup> aplicando 50 L de la mezcla en agua por cada 30 m<sup>2</sup> del cantero. Para el tratamiento de semillas: 1 - 5 g/kg de semillas.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 6213).

**Empresa fabricante:** BIO-CROP LTDA - Carrera 24 n 21-31 Palmira, Departamento Valle, Colombia (PRQRECTOR ..., 2011; Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## RIZODERMA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* Th2.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium graminearum*, *Drechslera tritici repentis*, *Bipolaris sorokiniana*, *Tilletia laevis*, *Ustilago tritici* que causan volcamiento, manchas foliares y carbones en el trigo y *Cercospora kikuchii*, *Phomopsis* spp., *Fusarium* spp. causantes de la mancha: *Cercospora* y *Phomopsis* y la pudrición de la raíz roja en la soja.

**Modo de acción:** inhibe el crecimiento de patógenos, promueve el crecimiento de las plantas y aumenta la longitud y el volumen de las raíces y las partes aéreas de las plántulas.

**Formulación:** líquido (AL) que contiene  $2 \times 10^8$  conidios/mL.

**Método de aplicación:** Tratamiento de semillas: trigo (600 mL/100 kg de semillas) y soja (300 mL/100 kg de semillas).

**Registro y comercialización del producto:** Argentina (SENASA 38004) y Paraguay (SENAVE 5268), Estados Unidos, Ucrania y Uruguay.

**Empresa fabricante:** Rizobacter Argentina S.A. Microbiología Agrícola. Laboratorio Elaborador de Productos Biológicos, PBO013 Av. Dr. Arturo Frondizi 1150 - Parque Industrial - C.P. B2702HDA Pergamino, Buenos Aires, Argentina (Rizoderma ..., 2016; Argentina, 2019a, 2019b).

## ROOT GUARDIAN

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* cepa T-22 (KRL - AG 2).

**Enfermedades y patógenos que controla:** fitopatógenos que viven en el suelo.

**Modo de acción:** crece en las raíces de las plantas protegiéndolas contra los patógenos.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^6$  UFC/g.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas, sistema radical y suelo.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU.

**Empresa fabricante:** Garden Alive Inc. 5100 Shenley Place. Lawrenceburg, IN, 4702, Estados Unidos (Root..., 2019).

## ROOT PRO

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* Th2.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Pythium* spp., *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium* spp.

**Métodos de aplicación:** en plántulas y vivero.

**Registro y comercialización de productos:** Israel

**Empresa fabricante:** Agriance, Israel (Agriance, 2014c).

## **ROOTGARD SP**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* aislado 21.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Sclerotium* y *Fusarium* spp. en maíz, trigo, frijol, papa, tomate, lechuga, crucíferas, zanahoria, cebolla y cucurbitáceas.

**Modo de acción:** coloniza y defiende las raíces de la planta de los ataques de patógenos de raíces. También ayuda en la solubilización del fósforo, poniéndolo a disposición de la planta, acelerando la descomposición de la materia orgánica y produciendo sustancias promotoras del crecimiento.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^9$  conidios/g.

**Métodos de aplicación:** se puede utilizar en goteo, aspersión, inmersión del sistema radical y tratamiento de semillas: 25 g/100 L de agua. Vía “*drench*”: aplicar en bandejas de plántulas, canteros u hortalizas después de la siembra como tratamiento preventivo. Se puede hacer una nueva aplicación si fuera necesario. Tratamiento de semillas: 1 g/kg de semillas.

**Registro y comercialización de productos:** Kenia y Sudáfrica.

**Empresa fabricante:** Juanco SPS Ltd. Sudáfrica. (Rootgard ..., 2019).

## **ROOTSHIELD WP, ROOTSHIELD GRANULES Y ROOTSHIELD AG**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* KRL-AG2 (T-22).

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición causada por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Thielaviopsis* y *Cylindrocladium* en frutos pequeños y bayas (mora, arándano, grosella, frambuesa, fresa, etc.); bulbos (ajo, puerro, cebolla, bulbos ornamentales, etc.); cítricos (naranja, toronja, limas, etc.); cucurbitáceas (pepino, melón, calabaza, etc.); hortalizas (berenjena, tomate, pimiento, rúcula, apio, escarola, lechuga, repollo, etc.); hierbas, especias y menta; cultivos hidropónicos (pepino, tomate, lechuga, hierbas y especias); frutas de clima templado (pera, membrillo); cultivos de vivero (arce, roble, uva, pino, etc.); flores y plantas ornamentales; frutas de hueso (albaricoque, cereza, melocotón, ciruela, nectarina); almendras, nueces, castaño, macadamia, pistacho, etc.; tubérculos (papa, batata, ñame, jengibre, etc.). El producto RootShield Granules también se recomienda para legumbres (frijoles, soja, lentejas, guisantes); semillas oleaginosas (algodón, canola, cártamo, girasol); trigo, maíz y espárragos. RootShield AG también se recomienda para plátanos, césped, espárragos, alfalfa y arveja.

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis, competencia, solubilización de nutrientes inorgánicos para absorción vía raíz, inducción de resistencia e inactivación de enzimas patógenas involucradas en el proceso de infección (Paulitz, Bélanger, 2001).

**Características del agente de control biológico:** *Trichoderma harzianum* KRL-AG2 (T-22) es el resultado de la fusión de protoplasmas entre los aislados de *Trichoderma harzianum* T-95 (que tiene competencia en la rizosfera) y el aislado T-12. El aislado T-22 coloniza todo el sistema radical y persiste durante un largo período cuando se aplica como tratamiento de semillas. Brinda protección a las plantas contra los patógenos del suelo. El hongo crece a un pH de 4 a 8 y una temperatura de 8,9 a 36 °C.

**Formulaciones disponibles y vida útil:** el producto RootShield WP se comercializa como polvo mojable que contiene 1,15% de *Trichoderma harzianum* KRL-AG2 (T22) a concentración de  $1 \times 10^7$  UFC/g y 98,85% de otros ingredientes. La vida útil es inferior a un mes a una temperatura superior a 24 °C, cuatro meses cuando se almacena a 21 a 24 °C, seis meses cuando se almacena a 4,4 °C y ocho meses a una temperatura inferior a 0 °C; el producto RootShield Granules está formulado en forma granulados que contienen 1,15% de *Trichoderma harzianum* T-22 a una concentración de  $1 \times 10^7$  UFC/g y 98,85% de otros ingredientes. La vida útil es de seis meses cuando se almacena entre 10 y 25 °C, nueve meses entre 0 °C y 10 °C y 12 meses por debajo de 0 °C; el producto RootShield AG contiene 1,15% de *Trichoderma harzianum* T-22 a una concentración de  $1 \times 10^7$  UFC/g y 98,85% de otros ingredientes. La vida útil es de ocho cuando se almacena por debajo de 0 °C, seis meses a 4 °C, cuatro meses entre 20 y 24 °C y menos de un mes cuando se almacena por encima de 24 °C.

**Método de aplicación:** Rootshield WP es un fungicida biológico preventivo para el control de enfermedades de plantas. El producto se aplica a un órgano de propagación o al suelo. Se puede aplicar solo y/o junto con algunos fungicidas. Nunca debe mezclarse con benomil, imazalil, propiconazol, tebuconazol y triflumizol (Rootshield WP, 2018).

Los gránulos son incorporados al suelo para proteger contra las enfermedades de las raíces. El producto RootShield AG se aplica para el tratamiento de semillas.

**Registro y comercialización del producto:** RootShield WP y RootShield Granules se comercializan en EE. UU. y Canadá. Los productos están certificados por More Profitable Sustainability - MSP y Ecocert en Canadá y por el Instituto de Revisión de Materiales Orgánicos - OMRI en los Estados Unidos. El producto RootShield AG se comercializa en EE. UU.

**Empresa fabricante:** BioWorks, Inc., 100 Rawson Rd, Suite 205 Victor, Nueva York 14564, EE. UU. (Rootshield ..., 2018a, 2018b, 2018c).

## SARDAR ECO GREEN

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Verticillium* *Alternaria*, *Macrophomina*, mildiú lanoso y *Botrytis*.

**Modo de acción:** parasitismo, estimulación de la germinación de semillas y crecimiento de plantas.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^6$  UFC/g. Duración: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 5 - 10 g/kg de semilla. Aplicación al suelo: 2,5 kg/ha. Aspersiones: 2,5 kg/ha.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Gujrat State Fertilizers & Chemicals Ltd. India (Arora et al., 2016; Sardar..., 2018).

## SILANKI

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** marchitez por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*) y volcamiento (*Rhizoctonia solani*) en tomate. Control de *Rhizoctonia solani* en arroz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, previniendo el desarrollo de hongos como *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* en cultivo de tomate y antagonismo.

**Características del producto:** compete con los hongos causantes de enfermedades de la raíz de cultivos, ya que se desarrolla primero en el sustrato y es parásito de los hongos fitopatógenos. Puede incluirse dentro del manejo integrado de cultivos, así como en la agricultura orgánica.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^8$  conidios/g.

**Método de aplicación:** para el tratamiento del suelo la recomendación es de 400 g/ha, antes o en el momento de la siembra. También se recomienda utilizar en el sistema de riego: 250 - 300 g/ha. Aplicar el producto dos veces, con un intervalo de 20 días, al inicio del trasplante.

**Registro y comercialización de productos:** Bolivia (SENASAG 2900) y Perú (SENASA PBUA 097).

**Empresa fabricante:** Biocare S.R.L. Av. Pedro Rivera, 530, Barrio Flelg UV, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. SEFI AS. Av. República do Panamá, 2577, La Victoria, Lima13, Perú (Perú, 2019).

## STERNIFAG SP

**La sustancia activa:** *Trichoderma harzianum* (BKM F-4099D).

**Enfermedades y patógenos que controla:** hongos que causan pudrición de las raíces en el trigo y la cebada; *Rhizoctonia solani* y *Alternaria* spp. en papa; pudrición de la raíz y cuello del tomate; *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, pudrición de la raíz causada por *Fusarium* spp. y pudrición en plántulas en girasol; *Helminthosporium* spp. y pudrición de la raíz del maíz; volcamiento de plántulas (*Aphanomyces cochlioides*, *Pythium debaryanum*, *P. ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Phoma betae* y *Fusarium* sp.) en remolacha; pudrición de raíces y tallos causada por *Fusarium* spp. en soja.

**Características del agente de control biológico:** descomponedor de restos de cultivos. A temperaturas superiores a los 8 °C, la descomposición de los restos de cultivo es de dos meses.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene 10<sup>10</sup> UFC/g. Validez del producto hasta dos años desde -30 a 30 °C.

**Métodos de aplicación:** aplicación de 80 g/ha, en solución de 300 L, mediante aspersión en el suelo y restos de cultivo de la cosecha anterior y asperjando en el suelo antes de la siembra/plantación.

**Registro y comercialización de productos:** Rusia. Certificado de registro 2118-10-307-214 (434) -0-0-3-0.

**Empresa fabricante:** АгроБиоТехнология - Agrobiotecnología LLC. 125212, Moscú, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4, Rusia (Sternifag ..., 2018).

## STIMUCONTROL

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* CCT 7589.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo y estimula el crecimiento del sistema radical de las plantas.

**Formulación:** suspensión concentrada (SC) con 1 x 10<sup>9</sup> UFC/L.

**Método de aplicación:** para el control de *Rhizoctonia solani* se recomienda tratar las semillas a dosis de 200 - 400 mL/100 kg de semillas, mientras que para el tratamiento del suelo se recomienda aplicar después de la siembra con 1,5 - 2,5 L/ha. Para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* se recomienda el tratamiento de semillas (200 - 400 mL/100 kg de semillas) y el tratamiento del suelo a una dosis de 1,5 - 2,0 L/ha. En aplicación al suelo, para el cultivo de soja se recomienda dos aplicaciones, una después de la siembra y la segunda en prefloración, mientras que para la lechuga se recomienda de dos a tres aplicaciones (diez días después de la emergencia; poco después del trasplante; siete días después de trasplantar las plántulas).

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa 22516) y Paraguay (SENAVE 4966).

**Empresa fabricante:** Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Biological Ltda. Rod. BR 158, km 206, Cruz Alta, RS. Brasil (Agrofit, 2003c; Paraguay, 2019).

## T-22-HC

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* T-22.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición causada por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Cylindrocladium* y *Thielaviopsis* en bulbos (ajo, puerro, cebolla, bulbos ornamentales, etc.); cereales (trigo, maíz, etc.); cucurbitáceas (pepino, melón, calabaza, etc.); hortalizas (berenjena, tomate, pimiento); hierbas, especias y menta; hortalizas de hoja (rúcula, apio, escarola, lechuga, repollo, acelga, mostaza, repollo, etc.); legumbres (frijoles, soja, lentejas, guisantes); plantas para la alimentación animal (alfalfa, Vicia, etc.); semillas oleaginosas (algodón, canola, cártamo, girasol) y tubérculos y raíces (papas, batatas, ñame, jengibre, etc.).

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis, solubilización de nutrientes inorgánicos para la absorción vía raíz, inducción de resistencia e inactivación de enzimas del patógeno implicadas en el proceso de infección, impide que el patógeno ocupe el espacio cercano a la raíz (Paulitz; Bélanger, 2001).

**Características del agente de control biológico:** *Trichoderma harzianum* T-22 es el resultado de la fusión de protoplasmas entre los aislados de *Trichoderma harzianum* T-95 (que tiene competencia en la rizosfera) y el aislado T-12. (Paulitz; Bélanger, 2001). El antagonista forma una barrera protectora en el sistema radical contra los patógenos. Crece mejor a un pH entre 4 y 8. Se alimenta de los nutrientes liberados por la raíz, eliminando el suministro para el patógeno.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^7$  UFC/g. La vida útil es de seis meses cuando se almacena entre 10 y 25 °C, nueve meses entre 0 y 10 °C y 12 meses por debajo de 0 °C (T-22-HC ..., 2018).

**Método de aplicación:** tratamientos de semillas, órganos de propagación, durante el trasplante y/o en el suelo. Se puede aplicar solo y/o junto con algunos fungicidas. No debe mezclarse con imazalil, propiconazol, tebuconazol y triflumizol (T-22-HC ..., 2018).

**Registro y comercialización del producto:** Se comercializa en EE. UU.

**Empresa fabricante:** BioWorks, Inc., 100 Rawson Rd, Suite 205 Victor, Nueva York 14564, EE. UU. (T-22-HC ..., 2018).

## TRIACTION

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* T-22.



**Enfermedades y patógenos que controla:** *Sclerotinia sclerotiorum* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

**Modo de acción:** parasitismo

**Formulación:** gránulos dispersables que contienen mínimo  $1 \times 10^8$  UFC/g.

**Método de aplicación:** se recomienda aplicar 1,0 – 1,5 kg/ha del producto comercial para ambos patógenos. Se recomiendan hasta dos aplicaciones foliares, en soja en etapa V2 y V4 y en tomate después de la siembra y en prefloración o con la aparición de los primeros síntomas.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa 27718).

**Empresa fabricante:** Koppert Brasil Holding Ltda. Rod. SP-135, km 17,5, 13420-280. Piracicaba/SP, Brasil (Agrofit, 2003).

### TRIANUM-G, TRIANUM-P, TRIANUM-WG

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* T-22.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Sclerotinia* spp. y *Microdochium* spp. en el césped, apio, lechuga, zanahoria, col rizada, coliflor, pepino, fresa, judías verdes, melón, nabo, cebolla, puerro, pimiento, tomate, romero, eneldo, cilantro, estragón, hoja de hinojo, albahaca, orégano, perejil, tomillo y plantas ornamentales para la producción de flores u hojas, rosales y frutales en viveros para la producción de plántulas.

**Modo de acción:** competencia por el espacio y los nutrientes, parasitismo, fortalecimiento de las plantas, inducción de resistencia y absorción de nutrientes.

**Características del agente de control biológico:** el hongo coloniza las raíces protegiéndolas contra *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*. *Trichoderma harzianum* aumenta la resistencia de la planta al estrés causado por patógenos, la falta de nutrientes y las condiciones climáticas. Aumenta la absorción de nutrientes, en consecuencia, mejora el desarrollo de las raíces y la parte aérea de la planta. El hongo crece en un amplio rango de temperatura (10 a 34 °C) y pH (4 a 8).

**Formulaciones disponibles y vida útil:** TRIANUM-G granulado que contiene  $1,5 \times 10^8$  conidios/g. TRIANUM-P granulado dispersable (GD) que contiene  $1,5 \times 10^9$  conidios/g. TRIANUM WG granulado dispersable (WG) que contiene al menos  $1 \times 10^8$  UFC/g. Validez de seis meses.

**Métodos de aplicación:** soja y tomate: se recomienda aplicar 1,0 - 1,5 kg/ha del producto Trianum WG. Se recomiendan dos aplicaciones foliares mediante aspersiones (brazo y mochila) o aéreas (aviones agrícolas). Puede mezclarse sobre sustrato, dispersarse en suelo o en el surco cerca de las semillas o raíces. Césped: aplicar en la superficie del suelo mojado:

3 kg/ha en la primera aplicación y 1,5 kg/ha en las aplicaciones mensuales. Aplicar con una temperatura del suelo superior a 8 °C. Vivero o plantas de jóvenes: aplicar 1,5 g/m de superficie cultivada (en 2,5-5 litros de mezcla final/m según el tipo de riego). Aplicar inmediatamente después de la siembra o de plantar los esquejes (enraizados o no). En las siguientes aplicaciones, utilice 0,75 g/m. Sustrato de siembra: Aplicar después de la siembra 30 g/1000 plantas o macetas (en 100 litros de suspensión), en la primera aplicación. Para mantener la presencia del antagonista en las raíces, repita el tratamiento utilizando la mitad de la dosis. Si se transfiere a macetas más grandes, vuelva a aplicar cada 10 semanas para cultivos en sustrato orgánico y cada 4 semanas para cultivos de lana de roca. Utilice 30 g/1000 plantas. Cultivos no perennes: aplicar después de la siembra 30 g/1.000 plantas (en 100 litros de suspensión) para la primera aplicación. Repita las aplicaciones cada 10 semanas. Cultivos perennes: aplicar 0,3 - 1 g/planta. Repita si es necesario. Otras formas: aplicar 1 - 2,5 kg/ha en el surco de siembra. En campo aplicar 2,5 - 5 kg/ha. Aplicar con temperatura del suelo superior a 8 °C. Árboles - en vivero: aplicar 1,5 g/m de superficie cultivada (en 2,5 - 5 litros de suspensión final/m<sup>2</sup>). Está indicado para aplicación preventiva en el surco de siembra, vía pivote central, con barra de aspersión, fertirrigación o tratamiento de semillas 1 - 1,5 kg/200 L de solución/ha.

**Registro y comercialización del producto:** Bélgica; Brasil (Triatum-WG, mapa 32117); Dinamarca; Canadá (Triatum-P y Triatum-G); Kenia; Sudáfrica; Porcelana; Nueva Zelanda y Australia.

**Compañía de producción:** Koppert B.V. Países Bajos. Veilingweg 14, P.O. Box 155. 2651 Berkel en Rodenrijs, Países Bajos. Koppert Canada Limited. 40 Ironside Cres., Unidad 3, Scarborough, Ontario. Sitio web: www.koppert.can. Koppert do Brasil Holding Ltda. Rod. SP-135, km 17,5, 13420-280. Piracicaba, SP, Brasil (Agrofit, c2003; Triatum..., 2018).

## TRICAT

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Botrytis cinerea*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* en frutales, café, tomate, batata, papa, cebolla, pimentón, alcachofa, espárrago, ajo, vivero de plantas forestales y plántulas y semillas de maíz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene 1 x 10<sup>12</sup> UFC/g.

**Método de aplicación:** para el cultivo del café, con el objetivo de controlar la roya del café: 1 L/ha. Para el cultivo de la vid, con el objetivo de controlar el moho gris: 2 L/ha. La frecuencia de aplicación dependerá del nivel de severidad de la enfermedad.

**Registro y comercialización de productos:** Perú (SENASA PBUA 324).

**Empresa fabricante:** Agroindustrial Lisa. Vía La Falca. Lote O4, Sector Pago de Ñoco, Toma La Huaca Lote O4, Urb. La Falca Grocio Prado Chinchá, ICA, Perú (Perú, 2019; Tricat ..., 2017).

## TRICH D

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium oxysporum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Phytophthora cinnamomi*, que causan marchitez vascular y pudrición de raíces y tallos. Control del moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) del crisantemo, marchitez del café por *Ceratocystis* (*Ceratocystis fimbriata*) y pudrición de la raíz causada por *Rhizoctonia solani* en arroz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** en cultivos de alcachofa y cebolla para el control de *Fusarium oxysporum*: 300 g/ha. Aplicar en cebolla después de la siembra y a la alcachofa después del trasplante. En aguacate para el control de la pudrición de la raíz: 600 g/ha. Aplicar dos o tres veces durante el desarrollo de la raíz, dependiendo de la severidad de la enfermedad. Cultivos anuales: aplicar por aspersión sobre el suelo húmedo o a través del sistema de riego en la presiembra, en la siembra o postsiembra, repetir la aplicación en la cuarta semana. Cultivos perennes: aplicar por aspersión sobre suelo húmedo o con el riego antes de la siembra o la siembra y cada 16 semanas después de la fertilización; también después de la poda y la cosecha. Tratamiento de semillas: 1g/kg de semilla. Para otros cultivos utilizar una dosis de 300 g/ha o 3 g/cantero de 30 m<sup>2</sup>.

**Registro y comercialización de productos:** Perú (SENASA PBUA O36) y Colombia (ICA 4573).

**Empresa fabricante:** Orius Biotecnología Ltda. Cra 23, 5-86, Barrio La Albonada, Villavivencio, Meta, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## TRICHO D WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* OBTh55.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Sclerotium*, *Rosellinia*, *Pythium*, *Armilaria*, *Alternaria* y otros en flores, hortalizas, frutales y cereales.

**Modo de acción:** inhibe el desarrollo y crecimiento de patógenos en el suelo por parasitismo y antibiosis; crece rápidamente y coloniza el suelo después de la aplicación, protegiendo las raíces de las plantas y compitiendo por el espacio con los patógenos.

**Características del agente de control biológico:** aislado depositado en una colección de Cultivo internacional bajo la referencia ATCC 20847.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $10^8$  conidios/g.

**Método de aplicación:** el producto se puede aplicar al suelo, asperjar sobre la planta o en el tratamiento de semillas.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia, Ecuador, Panamá, Perú, Costa Rica y Chile. Certificado para uso en agricultura orgánica: CE, USDA/NOP y JASP.

**Empresa fabricante:** Orius Biotecnología, Colombia (Trichod ..., 2017).

## TRICHO-D WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** moho gris (*Botrytis cinerea*) en vid.

**Modo de acción:** antibiosis, competencia y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^9$  conidios/mL.

**Método de aplicación:** foliar desde la floración, usando dosis de 300 g/ha, repetir cada 25 días. Máximo de cinco aplicaciones por temporada, dependiendo del follaje de la planta.

**Registro y comercialización de productos:** Chile (SAG 2594), Colombia (ICA 4573), Ecuador (Agrocalidad 327-F-AGR), Panamá (Mida 2636), Perú (Senasa PBUA 036) y Costa Rica (MAG 6117).

**Empresa fabricante:** Orbiotec SA. - Carrera 23, 5-86, Villavicencio, Departamento del Meta, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Perú, 2019).

## TRICHODERMA SUSPENSION

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** moho gris y podredumbre del cuello y raíces causada por *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cactorum* en vid, arándano, fresa, frambuesa, manzana y cereza.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene  $1 \times 10^9$  conidios/mL.

**Método de aplicación:** dosis de 100 - 200 mL/100 L de agua, aplicar una vez en cada una de las siguientes etapas fenológicas: flor, 4 - 5 mm, racimo; fruto y precosecha. Aplicar temprano en la mañana o al final de la tarde, evitar la radiación ultravioleta intensa. La dosis más baja se aplica como preventivo, la dosis más alta inmediatamente después de eventos de alta humedad. Dosificación de 100-200 mL/100 L de agua, aspersión foliar al inicio de la floración hasta la formación del fruto. Aplicar cada 15 a 20 días según la progresión de la enfermedad. No tiene un número máximo recomendado de aplicaciones. La dosis más baja

se aplica como preventivo, la dosis más alta inmediatamente después de eventos con alta humedad o daño inicial a la plantación. La dosificación de 100 - 200 mL/100 L de agua, aplicación en brotación y postcosecha mediante riego o aspersión del suelo. La dosis más baja se aplica como preventivo y la dosis más alta después de eventos de alta humedad.

**Registro y comercialización de productos:** Chile (SAG 2719).

**Empresa fabricante:** Itas S.A. Carretera Gral. San Martín Km. 15.5 Colina, Chile (Trichoderma-Suspensión ..., 2014).

## TRICHODERMA HARZIANUM

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* T-22.

**Enfermedades y patógenos que controla:** enfermedades de las raíces causadas por *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Thielaviopsis*, *Cylindrocladium* y problemas causados por el cultivo continuo. El producto se puede aplicar en tomate, pepino, pimiento, apio, comino, espinaca, sandía, fresa, arándano, enebro dragón, plantas cultivadas en viveros, ginseng, fritillaria, plantas fitoterapéuticas, clavel, lirios y orquídeas.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo, antibiosis e inducción de resistencia. Regulación del crecimiento de las plantas: *Trichoderma harzianum* tiene una relación simbiótica con la planta, proporciona nutrición y un ambiente favorable para el crecimiento de este hongo que como consecuencia ayuda en el crecimiento de las raíces de las plantas, facilitando el crecimiento de las plantas y aumentando el rendimiento de los cultivos.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $3 \times 10^8$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** riego en la raíz durante el trasplante y después del trasplante regar en la base de la planta, mediante “*drench*” en los semilleros, cortar la raíz sumergiendo o sumergiendo directamente en el polvo seco, mezclar con el suelo.

**Registro y comercialización de productos:** China.

**Empresa fabricante:** Beijing Coway BioWorks Biotech Co., Ltd. China (Chinabioworks..., 2018).

## TRICHODERMA PASTA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición del tallo causada por *Phytophthora cactorum* y *Botrytis* en cultivos de manzana, uva, arándano, pera, cereza, melocotón, ciruela y kiwi.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene  $1 \times 10^9$  conidios/mL.

**Métodos de aplicación:** manzana: 25 - 50 g/árbol. Aplicar en la base del árbol, una vez en primavera y una vez en otoño. Dosis más alta para aplicaciones en árboles de mayor

diámetro y/o con mayor daño del tejido. Frutales: 1,5 - 5 g/planta. Aplicar inmediatamente después de la poda. Dosis más alta cuando se trate de podas de mayor diámetro.

**Registro y comercialización de productos:** Chile (SAG 2718).

**Empresa fabricante:** Itas S.A. Carretera Gral. San Martín Km 15,5 Colina, Chile (Trichoderma-Pasta ..., 2014).

## TRICHODERMIL DS

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* (T-22).

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Macrophomina phaseolina* y *Pratylenchus brachyurus*.

**Formulación:** gránulos dispersables que contienen al menos  $1 \times 10^8$  UFC/g.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas a dosis de 200 - 300 g de producto comercial por 100 kg de semillas.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa 27618).

**Empresa fabricante:** Koppert Brasil Holding Ltda. Rod. SP-135, km 17,5, 13420-280. Piracicaba, SP, Brasil (Agrofit, 2003c).

## TRICHODERMIL SC

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* ESALQ-1306.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Pratylenchus zeae*.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo y metabolitos producidos por *Trichoderma harzianum* 1306 (proteasa, lipasa, glucanasa y quitinasa) que promueven la degradación de la pared celular de hongos y nematodos del suelo.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene al menos  $2 \times 10^9$  conidios viables/mL.

**Métodos de aplicación:** para el cultivo de frijol se recomienda 800 - 1000 mL/ha asperjados en el surco de siembra al momento de la siembra, para el control de *F. solani* f. sp. *phaseoli* y *Rhizoctonia solani*. Para el cultivo de fresa se recomienda 1 L/ha en aplicación foliar (2-7 aplicaciones a intervalos de 20 a 50 días desde el momento del trasplante) para el control de *Rhizoctonia solani*. Se recomiendan dos aspersiones (V3 y V5), con una dosis de 500 - 1000 mL/ha, para el control de *Sclerotinia sclerotiorum* en soja. En el control de *Pratylenchus zeae* se recomienda aplicar en el surco de siembra (1 L/ha) en el cultivo de caña de azúcar.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil (Mapa 002007) y Paraguay (SENAVE 4916).

**Empresa fabricante:** Koppert Brasil Holding Ltda. Rod. SP-135, km 17,5, 13420-280. Piracicaba/SP, Brasil (Agrofit, 2003c; Paraguay, 2019).

**TRICHODERMUS**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani*, en el arroz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $9 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 5315).

**Empresa fabricante:** Biológicos y Ecológicas de Colombia Ltda. Av. Pepe Sierra 54-90, OF. 302 Bogotá, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

**TRICHOFLOW**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Indicación:** producto usado como promotor del crecimiento.

**Modo de acción:** estimula el crecimiento de las raíces y aumenta la asimilación y utilización de los micronutrientes, aumenta la resistencia a condiciones adversas.

**Formulación:** polvo mojable (PM) que contiene  $1 \times 10^8$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** aplicar 250 g/100 L. Regar el sustrato de macetas o bandejas. Asegúrese de mezclar y remover bien para evitar la sedimentación de partículas. Aplicar antes de la siembra y repetir mensualmente. Use 250 mL/bandeja por aplicación.

**Registro y comercialización de productos:** Nueva Zelanda. Certificado por Bioagro New Zeland-Inputs for Organics 3515.

**Empresa fabricante:** Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Trichoflow ..., 2015).

**TRICHOHAR WP**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Botrytis cinerea* en guisantes y vid.

**Modo de acción:** competencia y antagonismo.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/g.

**Métodos de aplicación:** guisante: 500 g/200 L. Uva: 2 kg/ha. Realice una o dos aplicaciones durante la cosecha, en floración o fructificación.

**Registro y comercialización de producto:** Perú (SENASA PBUA 392) (Perú, 2019).

**Empresa fabricante:** Biocare S.R.L. Av. Pedro Rivera, 530, Barrio Flelg UV, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. Comercial Andina Industrial SAC (Perú, 2019; Trichohar..., 2019).

## TRICHOFUS WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*), marchitez por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*) y pudrición de la raíz causada por *Rhizoctonia solani* en clavel.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 7055).

**Empresa fabricante:** Saanitex S.A.S. Cr. 11 82 01 Piso 5, Bogotá, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## TRICHOLLANOS WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** vertido, causado por *Rhizoctonia solani*, en arroz y soja.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^9$  conidios viables/g.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 5870).

**Empresa fabricante:** Laboratorio Biológico La Avispita. Carretera 33 17 A-29, Villavicencio - Departamento del Meta, Colombia. Consultado el: 26 de febrero 2019 (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## TRICHOPEL

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Indicación:** utilizado para propagación de plántulas, aplicación en macetas, bulbos y tubérculos.

**Modo de acción:** producto usado como promotor del crecimiento.

**Formulación:** granulado con  $10^6$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** producción de plántulas: 5 - 10 g/bandeja deben distribuirse uniformemente en la zona de la raíz. Macetas: aplicar de 3 a 5 g/planta directamente sobre las raíces. Bulbos y tubérculos: 50 g/m<sup>2</sup> como capa uniforme debajo de los tubérculos al momento de la siembra. Campo: 10 - 30 kg/ha directamente en el surco de siembra. Cuando se usa en los hoyos de siembra colocan el producto en el fondo del hoyo. Vid: 1 - 5 g/planta joven y 5 - 10 g/planta adulta. En arbustos aplicar de 10 a 20 g/planta. Árboles: 50 g/planta. Árboles y vides establecidos: aplicar al suelo alrededor de las raíces y hasta a 50 cm del tronco. Cubra el producto después de la aplicación con tierra o paja.



**Registro y comercialización del producto:** Nueva Zelanda. Certificado por Bioagro New Zeland-Inputs for Organics 3515.

**Empresa fabricante:** Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancred's Road PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Trichopel..., 2015).

### TRICHOPLUS JCO GRAFITE

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* UFT 201.

**Indicación:** favorece el crecimiento de frijol y soja.

**Modo de acción:** promoción del crecimiento, solubilización de fosfatos y descomposición de materia orgánica.

**Formulación:** compuesto orgánico. Contiene conidios, hifas y clamidosporas.

**Registro y comercialización de productos:** Brasil

**Empresa fabricante:** JCO Indústria e Comércio de Fertilizantes. BR 242/020 – 830, Km 802. Barreiras, BA. Brasil (Trichoplus ..., 2019).

### TRICHOR

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium oxysporum*, *Oidium* spp. y *Colletotrichum gloeosporioides* en aguacate, cítricos, rosa, crisantemo, gladiolo, tulipán, clavel, fresa, frambuesa, grosella, tomate, papa, entre otros.

**Formulación:** suspensión concentrada al 1%.

**Método de aplicación:** aplicar en la base de la planta a intervalos de 20 días. Inicie las aplicaciones cinco días después del trasplante. También se puede aplicar a través del sistema de riego.

**Registro y comercialización de productos:** EE. UU. y está certificado por OMRI-CERES.

**Empresa fabricante:** Bio Loga S.A. de C.V. Calle sin nombre s/n. Chilchota, Michoacán 59799, México (Trichor..., 2019).

### TRICHOSAV-34

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** fitopatógenos habitantes del suelo como *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora capsici* y *Sclerotium rolfsii* en diferentes cultivos.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** granos de arroz con estructuras del hongo.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas, sustrato y plántulas. Aspersión de hojas.

**Registro y comercialización del producto:** Cuba.

**Empresa fabricante:** Centros de Reproducción de Medios Biológicos. INISAV. La Habana, Cuba (Bettiol et al., 2012; Fraceto et al., 2018; Woo et al., 2014).

## TRICOSIL 50 WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* APO01.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Phytophthora capsici* que causa el volcamiento en pimiento.

**Modo de acción:** antibiosis, antagonismo, parasitismo y competencia.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de  $2 \times 10^8$  UFC/g.

**Método de aplicación:** para el cultivo de pimiento: 8 kg/ha en aplicación foliar. Repita la aplicación después de 7 a 10 días. Trasplante de plántulas: 50 g/5 L de agua. Aplicación foliar y dirigida al suelo: 200 g/ha. Tratamiento del sustrato: 200 g/m<sup>3</sup>.

**Registro y comercialización del producto:** Perú (SENASA PBUA 179).

**Empresa fabricante:** Silvestre Perú S.A.C. Calle Arica 242 Miraflores. Lima 18, Perú (Perú, 2019; Trichosil..., 2019).

## TRICHOSOIL

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Botrytis* spp., *Sclerotinia* spp., *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. y *Sclerotium* que provocan volcamiento de plántulas de hortalizas, especies forestales y ornamentales.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $5 \times 10^8$  UFC/g.

**Método de aplicación:** sustratos: la dosis de aplicación es de 2 kg/m<sup>3</sup>. Haga la mezcla humedeciendo el sustrato, si es necesario. Cubrir con plástico o lona para incubar y favorecer la germinación de los conidios y el desarrollo del micelio de *Trichoderma*. Mezclar diariamente durante 3 a 5 días, dependiendo de la temperatura ambiental. Llenar las bandejas o tubos y sembrar. No se necesitan aplicaciones futuras durante la fase de vivero. Dependiendo de la infestación de patógenos en el suelo, la aplicación puede ser necesaria o no poco después del trasplante. Canteros en suelo desinfectados por solarización u otro método: se aplica una dosis de 1 - 2 g/m<sup>3</sup> para equilibrar el vacío biológico inmediatamente después de la desinfección. Preparar una suspensión y aplicar a través del agua de riego con abundante agua que permita que el producto penetre en el

perfil del suelo tratado. Espere de 3 a 5 días antes de sembrar. Canteros en suelo sin desinfectar: en el momento del trasplante regar a dosis de 2 g/m<sup>2</sup> con abundante agua en el cuello de las plántulas trasplantadas. Esta aplicación se puede complementar con un fungicida compatible. Según el resultado del monitoreo de la población de patógenos, las condiciones ambientales y el cultivo en cuestión, se pueden realizar aplicaciones secuenciales alternativamente con tratamientos químicos. Campo: para el control de *Sclerotium rolfsii* en el cultivo de ajo, la dosis de aplicación es de 10 kg/ha, distribuidos en 3 a 4 aplicaciones, comenzando a finales del invierno hasta 10 días antes de la cosecha. Si el campo también está infestado con *Sclerotium cepivorum*, la aplicación debe iniciarse antes. Cuando el área tiene una alta infestación con esclerocios y antecedentes de aparición de moho blanco, la dosis debe duplicarse.

**Registro y comercialización de productos:** Uruguay (MGAP 3087).

**Empresa fabricante:** Lage y Cia S.A. Cno. Carrasco 6948-11500, Montevideo, Uruguay (Trichosoil, 2014).

## TRICHOX WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** Marchitez por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*) en el clavel y volcamiento causada por *Rhizoctonia solani* en el arroz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de 1 x 10<sup>8</sup> UFC/g.

**Métodos de aplicación:** aplicar por aspersión, al momento de la siembra o en los primeros 15 días posteriores a la germinación de la semilla. Se recomienda aplicar 200 - 400 g/ha. En canteros se recomienda aplicar 0,5 - 0,9 g/m<sup>2</sup>, aplicar cada siete días.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 9121).

**Empresa fabricante:** Semillas Valle S.A. Carrera 34 n 14-156 Acopi, Yumbo, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## TRICHOSYM

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* T78.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Pythium* sp.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo, antibiosis e inducción de resistencia.

**Formulación:** concentrado soluble que contiene 5 x 10<sup>11</sup> UFC/L.

**Métodos de aplicación:** en campo o invernadero: 3 L/ha en dos aplicaciones (1<sup>a</sup> aplicación: 2 L 15 días después del trasplante, 2<sup>a</sup> aplicación: 1 L 30 días después de la primera aplicación). No mezclar con otros productos en el tanque de tratamiento. En viveros: 100 mL/m<sup>3</sup> de sustrato.

**Registro y comercialización del producto:** Marruecos.

**Empresa fabricante:** Éléphant Vert Maroc AS, Marruecos (Trichosym, 2018).

### TRICOMAC

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Formulación:** concentrado emulsionable (CE) que contiene  $1,5 \times 10^9$  UFC/g.

**Registro y comercialización de productos:** Paraguay (SENAVE 5478).

**Empresa fabricante:** Macc SRI Agricultura de Precisión. Fundación Proinpa. Av. Menezes, s/nº km O4 (Zona el Paso), Cochabamba, Bolivia (Paraguay, 2019).

### TRICONE V

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Pythium* sp., *Ganoderma* sp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp.; nematodos fitoparásitos, nematodo del banano (*Radopholus similis*, *Tylenchulus semipenetrans*, *Rotylenchulus reniformis*).

**Modo de acción:** competencia y antibiosis.

**Formulación:** polvo mojable enriquecido con neem.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 40 g/100 mL de agua/kg de semilla. Tratamiento radicular: 50 g/L de agua y remojar las raíces de la planta antes de trasplantar.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Neuscire Biolab. India (Tricone..., 2019).

### TRICOTOP PLUS

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*.

**Efectos y patógenos que ataca:** promotor del crecimiento de hortalizas, soja y frutales.

**Modo de acción:** promotor del crecimiento.

**Características del agente de control biológico:** promotor del crecimiento de las raíces, segregan hormonas que promueven el desarrollo y la salud de las raíces, aumentan el volumen de las raíces y mejoran la absorción de nutrientes y agua.

**Formulación:** concentrado emulsionable.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas de soja: 250 mL/500 kg de semillas. Para el tratamiento de surcos de siembra: en hortalizas 40-100 mL/ha y en frutales utilizar 80-150 mL/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Bolivia (SENASAG 3577).

**Empresa fabricante:** Fundación Proinpa - Av. Menezes, S/No, Km O4, Cochabamba, Bolivia.

## TRIHOTCIN SP

**La sustancia activa:** *Trichoderma harzianum* 30 ВИЗР.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz en trigo, centeno y cebada; *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* y *Septoria* spp. en trigo; *Fusarium* spp., *Septoria glycines* y *Ascochyta sojaecola* en soja; *Alternaria* spp., *Erysiphe cruciferarum*, *Olpidium brassicae* y pudrición del cuello (*Pythium debaryanum* y *Rhizoctonia aderholdii*) en colza; volcamiento de plántulas (*Aphanomyces cochlioides*, *Pythium debaryanum*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Phoma betae* y *Fusarium* sp.) en remolacha; *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans* y *Alternaria* spp. en papa; *Alternaria* spp. en zanahoria; pudrición del cuello en col; pudrición de la raíz y cuello en hortalizas; pudrición y marchitez de la raíz de *Fusarium* sp. en flores y *Alternaria vitis* en vid.

**Características del agente de control biológico:** aumenta el rendimiento de los cultivos y también el contenido de azúcar y vitaminas de los frutos.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $10^{10}$  UFC/g. Validez de 2 años cuando se almacena entre -30 y 30 °C.

**Métodos de aplicación:** para el control de la pudrición de la raíz en trigo, centeno y cebada, se recomienda el tratamiento de semillas (20 g/tonelada de semillas). Aspersiones de 30 - 40 g/ha en los periodos de macollamiento y floración para el control de *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* y *Septoria* sp. en trigo, *Septoria secalis* en centeno, *Drechslera teres* en cebada. Para cultivos de soja y colza: se recomienda tratar las semillas con 20 - 30 g/ton de semillas, además de dos pulverizaciones con 20 - 40 g/ha durante el crecimiento de la planta. En remolacha: se recomienda aplicar 40 g/ha antes o al momento de la siembra. En cultivo de papa: se recomienda tratar los tubérculos con 20 g/ton de tubérculo y asperjar las plantas en crecimiento en dos aplicaciones con 50-80 g/ha. En cultivo de zanahoria: asperjar el suelo antes de la siembra o al momento de la siembra, a una dosis de 50 g/ha, además de asperjar durante el crecimiento de la planta. En col, hortalizas y flores: aplicar 30 g/500 m<sup>2</sup> al suelo al trasplantar las plántulas (50 L de solución). En vid: se recomienda aplicar 80 g/ha (1200 - 1500 L de solución), haciéndose hasta 5 aplicaciones durante el crecimiento de la planta.

**Registro y comercialización de productos:** Rusia. Número de registro 139-02-96-1.

**Empresa fabricante:** АгроБиоТехнология - Agrobiotecnologia LLC. 125212, Moscú, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4 (Trihotcin..., 2018).

## TRI-CURE WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* MIT04.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Pythium* en diversos cultivos.

**Modo de acción:** estimula el crecimiento de plantas en condiciones de suelo infectado.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^9$  conidios/g. Preferiblemente almacenado entre 5 y 20 °C.

**Métodos de aplicación:** diluir 25 g/100 L de agua. Primero mezcle la cantidad requerida de producto en una pequeña cantidad de agua. Una vez que se forma una pasta fina, se puede agregar el agua restante. Vía “*drench*”: aplicar en bandejas de plántulas, canteros u hortalizas directamente después de la siembra como tratamiento preventivo. Una nueva aplicación puede ser realizada si es necesario. Tratamiento de semillas: 1 g/1 kg de semillas.

**Registro y comercialización del producto:** Sudáfrica (L 8295).

**Empresa fabricante:** MBFI. Sudáfrica (Tri-cure ..., 2016).

## TRIXOCZIN SP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* 30 ВИЗР.

**Enfermedades y patógenos que controla:** fitopatógenos que causantes de la pudrición de la raíz en flores y la pudrición de raíz y cuello en pepino y tomate.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $10^{10}$  UFC/g. Validez hasta dos de -30 a 30 °C.

**Métodos de aplicación:** para plántulas de flores se recomienda aplicar 6 g/100 m<sup>2</sup>, aplicando 2-3 L de solución/m<sup>2</sup>. Se recomienda aplicar al suelo de 1 a 3 días antes del trasplante y de 3 a 7 días después del trasplante. Para tomate se recomienda la aplicación de 6 g/10 L de solución, siendo aplicados 10 L/100 m<sup>2</sup> directamente al suelo 1 a 3 días antes del trasplante. Después de 3 a 7 días del trasplante, se recomienda aplicar 100 - 150 mL de solución/planta.

**Registro y comercialización de productos:** Rusia.

**Empresa fabricante:** АгроБиоТехнология - Agrobiotecnología LLC. 125212, Moscú, Kronstadt Boulevard, 7, bld.4, Rusia (Trixoczin..., 2018).

## TRYCHONYD FR 25

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* CCT6550.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Formulación:** formulación en gel emulsionable que contiene  $1,1 \times 10^8$  UFC/cm<sup>2</sup> (200 mL/L).

**Registro y comercialización del producto:** Brasil (Mapa 3919).

**Empresa fabricante:** TZ Biotech Ltda. Av. Dra Nadir Aguiar, 1805, 14056.680 Ribeirão Preto, SP, Brasil (Agrofit, 2003c).

***Trichoderma koningiopsis*****DIAMOND**

**Principio activo:** *Trichoderma koningiopsis* IBCB 56/12.

**Enfermedades y patógenos que controla:** nematodos *Meloidogyne incognita*, *Pratylenchus brachyurus* y *Heterodera glycines*.

**Formulación y vida útil:** granulado dispersable con  $3 \times 10^9$  UFC/g. Validez de tres meses a una temperatura de 21 a 25 °C.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas: 1,5 a 2,0 g/kg de semillas.

**Registro y comercialización del producto:** Brasil (Mapa 20518).

**Empresa fabricante:** Laboratório de Biocontrole Farroupilha Ltda. Av. Julia Fernandes Caixeta, 555, 38706-420. Patos de Minas, MG, Brasil (Agrofit, 2003c).

**TRICOTEC**

**Principio activo:** *Trichoderma koningiopsis*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** marchitez por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*) y volcamiento del tomate (*Rhizoctonia solani*); moho blanco (*Sclerotinia minor*, *Sclerotinia sclerotiorum*) de lechuga y volcamiento (*Rhizoctonia solani*) de arroz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^9$  UFC/g.

**Método de aplicación:** Debido a su modo de acción, el producto debe aplicarse de forma preventiva antes de que ocurra la infección. El producto se puede aplicar a través de las líneas de goteo, así como por inmersión del material de siembra. Aplicación por goteo: 125 g/ha, mezclado en 100 L de agua. La agitación de la mezcla debe continuar durante todo el período de aplicación para asegurar una distribución uniforme. Aplicación vía “drench”: 125 g/ha en agua para cubrir el área deseada. Aplicación por inmersión: recomendada como aplicación pre-trasplante de las plántulas o esquejes enraizados. Colóquelos en cajas de plástico perforadas y sumérgalas en una suspensión del producto.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 10150).

**Empresa fabricante:** Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOI-

CA) Km 14 Vía Mosqueram, Bogotá, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## Trichoderma lignorum

### MYCOBAC WP

**Principio activo:** *Trichoderma lignorum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** marchitez por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) en clavel y tomate y volcamiento (*Rhizoctonia solani*) en arroz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de  $2 \times 10^7$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** se puede aplicar al suelo, dirigido al rizoma cubriendo el suelo alrededor. Inicie las aplicaciones después del trasplante repitiendo las aplicaciones cada semana en la estación lluviosa y cada 15 días en la estación seca. Dosis de 4 a 8 g/4L agua/m<sup>2</sup>.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 3853).

**Empresa fabricante:** Laverlam S.A. Carrera 5 n 47-165, Cali, Valle del Cauca, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

### TRICHOBIOIOL WP

**Principio activo:** *Trichoderma lignorum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani*, en el arroz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^9$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** se recomienda mezclar con agua con un pH entre 5 y 7, se sugiere usar un corrector si es necesario, agregando primero el corrector al agua y luego el producto. Aplicar 1-2 g/L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 5397).

**Empresa fabricante:** Arturo Orlando Mora Jaramillo - Biocontrol – Av. Pepe Sierra 54-90 OF. 302, Bogotá, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

### TRICHOGEN WP

**Principio activo:** *Trichoderma lignorum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* en el arroz.

**Modo de acción:** antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^9$  conidios viables/g.



**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 4747).

**Empresa fabricante:** Yaser S.A.S. Cra. 2N No 21-80 B/El Piloto, Cali, Colombia. <http://yasersas.com/producto/trichogen-wp/>. Consultado el: 1 mar. 2019. Orbiotec S.A. - Carrera 23, No 5-86, Villavicencio, Departamento del Meta, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

### *Trichoderma virens*

#### PHC ROOTMATE

**Principio activo:** *Trichoderma virens* G-14.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Phytophthora* spp.

**Características del agente de control biológico:** *Trichoderma virens* está patentado por la patente estadounidense n° 5.165.928 de la Universidad de Cornell para el control de *Phytophthora* spp.

**Formulación y vida útil:** contiene 6 x 10<sup>8</sup> UFC/g. Lo ideal es almacenarlo a temperaturas menor a 20 °C. Cuando se almacena a bajas temperaturas, la viabilidad puede extenderse a 24 meses.

**Método de aplicación:** aplicar por inmersión de las plántulas o mediante el sistema de riego dirigido a la zona radical de la planta.

**Registro y comercialización del producto:** RootMate es una marca comercial registrada de BioWork In, Nueva York, que comercializa el producto en los EE. UU. En México, la distribución la realiza exclusivamente Health Care de México, S.R.L. de C.V.

**Empresa fabricante:** Plant Health Care de México, S.R.L. de C.V. Av. Ceylán 959, Bodega 26. Col. Industrial Vallejo. Ciudad de México, México 02300. BioWorks, Inc., 100 Rawson Rd, Suite 205 Víctor, Nueva York 14564 (PHC, 2018).

#### SOILGARD 12 G

**Principio activo:** *Trichoderma virens* (anteriormente *Gliocladium virens* GL-21).

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento y pudrición de la raíz, causada por *Rhizoctonia solani*, *Pythium* y *Fusarium*, en diferentes cultivos (cucurbitáceas, ornamentales, lechugas, espinacas, etc.).

**Modo de acción:** antibiosis, produce metabolitos tóxicos como gliovirina y gliotoxina; parasitismo y competencia.

**Características del agente de control biológico:** se encuentra de forma natural en diferentes suelos de EE. UU. y actúa confiriendo protección a las plantas de los patógenos

transmitidos por el suelo. Compatible con el manejo integrado. Amplio espectro de control de patógenos habitantes del suelo (SoilGard..., 2019).

**Formulación y vida útil:** granulada que contiene  $1 \times 10^6$  UFC/g. La vida útil es de 12 meses cuando se almacena a temperatura ambiente.

**Método de aplicación:** incorporación al suelo o al sustrato antes de la siembra, en invernadero, viveros y jardines en cultivos convencionales u orgánicos. El producto debe mezclarse con agua antes de su aplicación.

**Registro y comercialización de productos:** Estados Unidos y México. Posee certificado de OMRI.

**Empresa fabricante:** Certis USA. L.L.C., 9145 Guilford Road, Suite 175, Columbia, MD 21046, EE. UU. Certis Agro México, S. de R.L. de C.V. Bosque de ciruelos 180 PP 101 Col. Bosque de las Lomas. 11700, Miguel Hidalgo, México (SoilGard..., 2019).

### *Trichoderma viride*

#### **AGRIGOLD TRICHOGOLD**

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz y tallo causada por *Phytophthora*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, marchitez causada por *Fusarium* y *Verticillium*, manchas causadas por *Alternaria*, *Ascochyta*, *Cercospora*, *Macrophomina*, *Myrothecium*, *Ramularia*, mildiú y oidio, roya blanca y enfermedades fúngicas en algodón, legumbres, hortalizas, oleaginosas, frutales y floricultura.

**Modo de acción:** antagonismo y promoción del crecimiento.

**Formulaciones disponibles:** líquido y en polvo mojable.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Agrigold Organics Private Ltd. India (Trichogold ..., 2019).

#### **ANKOOR**

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo en cultivos como soja, maíz, arroz, trigo, césped, guisantes, maní, girasol, tomate, papa, coliflor, ají, etc. Controla marchitamiento, pudrición de la raíz, pudrición del tallo, pudrición del cuello, carbón, pudrición fruto y *Phytophthora* spp.

**Métodos de aplicación:** polvo mojable a 1% de concentración.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Tender Sips. India (Ankoor ..., 2019).

## ANTAGON

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Macrophomina phaseolina* y *Sclerotinia* spp.

**Modo de acción:** promotor del crecimiento de las plantas y como barrera protectora natural alrededor de las raíces.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^7$  UFC/g. Vida útil: 6 meses.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 6 g/kg de semillas. Tratamiento del suelo: 1 kg/15 kg de estiércol y distribuir al suelo. No debe mezclarse con insecticidas y fungicidas químicos. Se recomienda para caña de azúcar, algodón, bananos, maní, ají, café, té, flores, hortalizas, etc.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Omega Ecotech Products India PVT-Ltd. 10, 5ta Cruz, Bharathi Nagar, Ganapathy, Coimbatore-641006, India (Antagon ..., 2019).

## ASTHA TV

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición del cuello y pudrición del rizoma.

**Modo de acción:** competencia.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^7$  UFC/g. Vida útil: 6 meses.

**Métodos de aplicación:** mezclar el producto con el compuesto de vermiculita y esparcirlo en el suelo.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Lila Agrotech. India (Astha ..., 2019).

## BIO CURE-F

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii* y *Sclerotinia homoeocarpa* que causan pudrición de la raíz, marchitez de la raíz, pudrición de plántulas y otras pudriciones en cereales, plantas ornamentales, lentejas, frijoles, guisantes, arroz, tomate, pepino, papa, cítricos, melón, piña, rosas, clavel, girasol, canola, maní, algodón, sisal, tabaco, caña de azúcar, té, café, césped, turba de pasto y campo de golf, entre otros.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo y antibiosis.

**Características del agente de control biológico:** compatibilidad con mancozeb 75% PM, carbendazim 50% PM y cloruro de cobre 88%. Se puede mezclar en el tanque con estos productos.

**Formulaciones disponibles y vida útil:** líquido que contiene  $1 \times 10^9$  UFC/mL y polvo mojable que contiene  $2 \times 10^6$  UFC/g. Vida útil: 1 año.

**Métodos de aplicación:** invernadero o vía “*drench*”: diluir el producto en una cantidad suficiente de agua (1000 mL o 2000 g/100 L) para obtener una aplicación uniforme. Para bulbos y plantas ornamentales: sumerja los bulbos o plántulas en una suspensión que contenga 10 mL o 20 g/L antes de plantar. Tratamiento de semillas: 6 mL u 8 g/kg de semillas. Tratamiento de plántulas: 10 mL o 20 g/L de agua - sumerja las raíces de las plántulas en la suspensión durante 30 min antes de plantar. Aplicación al suelo: mezclar 3 L o 4 kg/ha con 1.000 kg de abono orgánico o cualquier otro material orgánico mezclar bien y aplicar de manera uniforme. En el caso de alta infestación, se recomiendan varias aplicaciones. Mezcle con el sustrato de plantación o aplíquelo al suelo. Inmersión de bulbos en la suspensión a una concentración de 10 mL o 20 g/L de agua antes de plantar. Tratamiento de semillas, tratamiento de plántulas, sistema de goteo y aplicación al suelo.

**Registro y comercialización de productos:** India, Unión Europea y EE. UU. (con certificación OMRI).

**Empresa fabricante:** T. Stanes & Company Ltd. India (Bio-Cure ..., 2019).

## BIODERMA H

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium* y manchas causadas por *Alternaria*, *Ascochyta*, *Cercospora*, *Macrophomina*, *Myrothecium*, *Ramularia*, mildiú lanoso y mildiú polvoriento.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo, desintegración de hifas de patógenos por medio de la acción de enzimas. Los metabolitos producidos también estimulan la germinación de semillas, el crecimiento de raíces y plantas.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^9$  UFC/g. La vida útil del producto es de un año, cuando se almacena en un lugar fresco y seco, alejado de la luz solar directa y del calor en áreas ventiladas.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 5 - 10 g/kg de semilla. Plántulas: 50 - 100 g/10 - 20 L de agua y sumergir las raíces durante 30 minutos antes del trasplante. Aplicación al suelo: 2,5 kg/100 L. Tratamiento foliar: 5 - 10 g/L de agua y aplicar con aspersor.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Biotech International Ltd. India (Biotech International, 2018).

## BIOHIT

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos del suelo y nematodos.

**Modo de acción:** parasitismo y competencia.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración del 1%.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Indore Biotech Inputs and Research Pvt. Ltd. India (Biohit ..., 2019).

## BIO PLUS-TRICHO

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo.

**Modo de acción:** parasitismo y antibiosis.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Deepa Farm Inputs Private Limited. India (Bio plus-tricho ..., 2019).

## BIOSHIELD

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de 1%.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Ambika Biotech. India (Bioshield ..., 2019).

## BHOOMIKA 1% WP

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que ataca:** podredumbre causada por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Botrytis*, marchitez por *Fusarium*, *Sclerotium* spp., *Sclerotinia* spp. y *Ustilago* spp. en berenjena, papa, ají, tomate, pepino, flores de corte y de florero, frutales, vid, ornamentales en invernaderos, césped y viveros.

**Modo de acción:** Produce sustancias tóxicas, como glioxina, viridina y tricodermina y actúa por competencia y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene 1% de *Trichoderma*.

**Métodos de aplicación:** en huertos frutales y pimiento asperjar para prevenir la aparición de mildiú polvoriento y otras enfermedades foliares. Es necesario repetir la aplicación para proteger los cultivos. Tratamiento del suelo: 5 kg/ha en combinación con cualquier abono

orgánico. Tratamiento de semillas: 4 - 5 g/kg de semillas. Tratamiento de plántulas: 100 g/L antes de plantar. La aspersión foliar se puede realizar aplicando 5 g/L de agua. El volumen de pulverización depende de la copa del cultivo.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Varsha Bioscience and Technology. Suvey 253/A, Jiblakpally Village, Pochampally mandal, Nalgonda dist., Telangana-508284, India (Bhoomika ..., 2019).

## BIOPROTECTOR

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Registro y comercialización de productos:** India.

Empresa fabricante: Kisaan Kranti. India. <http://www.esuppliersindia.com/kisaan-kranti/trichoderma-viride-bio-protector-pr4028990-sFP-swf.html>. Consultado el 08/03/03.

## BIO PROTECTOR TRICHODERMA VIRIDE

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz, marchitez, pudrición parda, ablandamiento y otras enfermedades causadas por *Pythium*, *Botrytis*, *Phoma*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Ascochyta*, *Alternaria* en diferentes plantas (pepino, tomate, col, ají, plantas ornamentales, cereales y legumbres).

**Modo de acción:** antibiosis y como promotor del crecimiento.

**Formulación:** polvo mojable y líquido concentrado.

**Métodos de aplicación:** mezclar el producto con vermiculita y esparcirlo por el suelo.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** ManiDharma Biotech Private Ltd. 61, Kamatchi Nagar, Madhanandhapuram Porur, Kundrathur Road, Moulivakkam, Chennai, 600125 Tamil Nadu, India (Bio Protector ..., 2018).

## CONTEGO TR

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Indicación:** promotor del crecimiento de plantas y raíces, inductor de defensa, rendimiento y calidad. Protección contra patógenos, como *Rhizoctonia*, *Pythium* y *Armillaria*.

**Modo de acción:** competencia, degradación de las paredes celulares de los hongos objetivo; parasitismo. Se encuentra de forma natural en el suelo y es eficaz como recubrimiento de semillas en el control de enfermedades transmitidas por semillas y por el suelo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene dos cepas de *Trichoderma viride*.

**Métodos de aplicación:** aplicar en forma líquida a dosis mínima de 30 L/ha. Se

recomienda que el producto esté en forma líquida durante un período mínimo de 30 minutos antes de su aplicación. Aplicar por la mañana o al final de la tarde, cuando la temperatura del suelo sea superior a 10 °C. Pasto: 500 - 1000 g/ha. Aplicación al suelo: 500 - 1000 g/ha. Tratamiento de raíces: mezclar 1: 8 con agua y sumergir cada planta durante 30 segundos.

**Registro y comercialización de productos:** Nueva Zelanda. Certificado para Agricultura Ecológica.

**Empresa fabricante:** Biological Solutions Ltd 4a Cargill Place, Richmond, Nelson 7020,

Nueva Zelanda. [www.biosolutions.co.nz](http://www.biosolutions.co.nz). (Contego TR, 2013).

## COIMBATORE

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz, marchitez, pudrición parda, ablandamiento y otras enfermedades causadas por patógenos habitantes del suelo.

**Modo de acción:** antibiosis, competencia, promoción del crecimiento e inducción de resistencia.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^7$  UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 40 g/kg de semilla. Plántulas: 2 kg/50 L de agua y sumergir las plántulas durante 10 minutos antes de plantar. Aplicación al suelo: 5 kg/100 kg de abono orgánico, mantener la mezcla a la sombra durante una semana antes de aplicarla al suelo.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Green Max Agro Tech. India (Coimbatore ..., 2018).

## ECODERMA

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos tanto de semillas como del suelo, pudrición de la raíz y marchitez.

**Modo de acción:** antibiosis y competencia.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^8$  UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 100 g/10 L de agua, sumergir las semillas durante 10 - 15 minutos, mantener a la sombra y luego sembrar. Vía “*drench*”: 10 g/L de agua. Aplicación al suelo: 5-8 kg/ha.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** P.J.Margo Private Limited Bangalore. India (Ecoderma..., 2019).

## ECOSOM - TV

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia* spp, *Pythium* spp, *Fusarium* spp y *Alternaria* spp.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo, promotor del crecimiento, producción de enzimas (celulasa y quitinasa) que degradan la pared celular, producción de metabolitos tóxicos a los patógenos.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^6$  UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** *drench*: 10 g/L de agua. Goteo: 3-5 kg/50 L de agua mezclado en el agua de riego. Aplicación al suelo: 50 - 150 kg/ha. Inmersión de raíces: 10 g/L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Agri Life, India (ECOSOM, 2018).

## EMERALD MAULIKA

**Principio activo:** *Trichoderma viride*

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Cercospora*, *Macrophomina*, mildiú lanoso y mildiú polvoriento.

**Modo de acción:** competencia por espacio y nutrientes, parasitismo y antagonismo.

**Características del agente de control biológico:** secreta celulasa y quitinasa.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Emerald Bio. India (Emerald ..., 2019).

## ENPRO-DERMA

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Pythium*.

**Modo de acción:** antibiosis, inducción de resistencia en la planta, competencia y como promotor del crecimiento.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^6$  UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** aspersión: 5 g/L de agua. Aplicación al suelo: 3 a 5 kg/200 L de agua.

**Registro y comercialización del producto:** India.



**Empresa fabricante:** Enpro Bio Sciences Private Ltd. India (Enpro-Derma ..., 2018).

## FUNGISTOP

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Sclerotium* spp., *Botrytis* spp., *Alternaria* spp., *Verticillium* spp., *Peronospora* spp. y *Erysiphe* spp.

**Modo de acción:** parasitismo, competencia y antibiosis.

**Formulación y caducidad:** producto compuesto por un complejo de conidios y micelio de *Trichoderma viride*, a una concentración de  $2,0 \times 10^9$  UFC/mL. Vida útil de hasta 6 meses.

**Método de aplicación:** cucurbitáceas: en invernadero (15-30 L/ha) para el control de la pudrición de la raíz, marchitez por *Fusarium*, mildiú lanoso, pudrición blanca y gris o en campo (10-15 L/ha) para el control de *Alternaria*, marchitez por *Fusarium*, mildiú lanoso, pudrición blanca y gris, a través de la fertilización regular de las raíces con un intervalo de 35-30 días (4 - 5 tratamientos). Solanáceas: aplicación de 10 - 15 L/ha para el control de la pudrición de la raíz, mancha por *Alternaria*, tizón tardío, marchitez por *Fusarium* y oidio, mediante el tratamiento durante la fase de crecimiento de la planta (2 - 3 aplicaciones). Frutales: tratamiento durante la etapa de crecimiento con 5 L/ha (2-3 aplicaciones) para el control del oídio, pudrición blanca y gris.

**Registro y comercialización del producto:** Rusia y Ucrania.

**Empresa fabricante:** Biona (Биона). Oficina central en Belgorod: 308015, Federación de Rusia, Belgorod, ul. Chicherina, 3B. 308015, Российская Федерация, г. Белгород, ул. Чичерина, 3Б, Rusia (Fungistop ..., 2018).

## KRISHI BIO NIDAN

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* y otros.

**Modo de acción:** promotor del crecimiento, antibiosis y competencia.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^6$  UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** aplicación al suelo: 2-3 kg/100 kg de abono orgánico, luego esparcir por el suelo. Tratamiento de semillas: 10 g/30 mL de agua por 1 kg de semillas. Tratamiento de las raíces de la plántula: 150 g/15 L de agua y las raíces sumergir durante 30 minutos antes de plantar.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Krishi Bio Products and Research Pvt Ltd. India (Krishibio ..., 2018).

## MONITOR

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** enfermedades de las raíces causadas por *Pythium*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium* y *Botrytis*.

**Modo de acción:** promotor del crecimiento, antibiosis, parasitismo y competencia.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^8$  UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** aplicación al suelo:  $250 \text{ g/m}^3$ . Tratamiento de semillas: 2 g/kg de semilla.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Agriland Biotech Ltd. India (Monitor..., 2016).

## NICODERMA

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium* spp., pudrición de las raíces y cuello y marchitez

**Modo de acción:** parasitismo y antibiosis.

**Características del agente de control biológico:** acción como biofertilizante por su capacidad para solubilizar el fósforo y descomponer la materia orgánica.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^8$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** aplicar 4 kg/ha, preferiblemente mezclado con 2.000 kg de materia orgánica.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Nico Orgo. India (Nicoderma ..., 2015).

## NISARGA

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz y cuello, marchitez e volcamiento.

**Modo de acción:** parasitismo, promotor del crecimiento y antibiosis.

**Formulación:** polvo mojable y suspensión concentrada 1%.

**Métodos de aplicación:** aplicación foliar: 3 g/L de agua, asperjar durante la noche. Aplicación al suelo: 1-2 kg/100 kg estiércol/ha.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Multiplex Group of Companies, No 180, 1st main, Mahalakshmi layout, Bengaluru, India (Nisarga..., 2019).

### PEAK TRICO

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz, pudrición y marchitez por *Fusarium*.

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis y competencia.

**Formulación:** líquido soluble.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 20 mL/500 mL de agua y cubrir las semillas necesarias para 0,5 ha. Foliar: 20 mL/100 L de agua. Aplicación al suelo: 250 mL/20 kg de materia orgánica. Plántulas: 50 mL/100 L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Peak Group. India (Peak..., 2019a).

### PRABHA DERMA

**Principio activo:** *Trichoderma viride* ITCC6914.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Cercospora*, *Macrophomina*, *Ramularia*, *Myrothecium*, mildiú y oídio en cereales, algodón, frutales, ornamentales, hortalizas y otros.

**Modo de acción:** antibiosis, competencia, parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^6$  UFC/g.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Prabhat Fertilizer & Chemical Works. Mangalpur, Kunjapura Road, Karnal, Haryana-132001. India (Prabha ..., 2019).

### SANJEEVNI

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Sclerotinia*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Phytophthora* y otros patógenos.

**Modo de acción:** antibiosis y producción de enzimas.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^9$  UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 8 - 10 g/50 mL de agua y aplicado a 1 kg de semilla. Tratamiento de plántulas: 500 g/50 L de agua, sumergir las raíces de las

plántulas durante media hora en la suspensión. Vía “drench”: 1 a 2 kg/200 L de agua e inundar el suelo.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** International Panaacea Ltd. India (Sanjeevni..., 2018).

## TRICHOMAX

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia* spp., *Botrytis* sp., *Alternaria* sp., *Stemphylium* sp., *Verticillium* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Pythium* sp., *Phoma* sp., *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp. en aguacate y espárragos.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis, inducción de resistencia, parasitismo y promotor del crecimiento.

**Formulación:** granos de maíz que contienen  $1 \times 10^{12}$  conidios/kg.

**Método de aplicación:** para la tristeza del aguacate: 5 g/planta. Para otras enfermedades: 10 - 20 kg/ha. En vivero, aplicar antes del trasplante, en campo de 2 a 3 veces en el ciclo de cultivo. Antes de su uso, los conidios deben suspenderse en agua, use 800 g/L de agua mezclados con 0,5 mL de surfactante agrícola.

**Registro y comercialización de productos:** Perú (SENASA 393) (Perú, 2019).

**Empresa fabricante:** Soluciones Agrosostenibles SAC. Av. Metropolitana Mz F1 Lote 5, Urb. San Isidro. Trujillo, La Libertad, Perú (Perú, 2019; TRICHOMAX, [2018]).

## TRICORICH

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** marchitamiento, volcamiento, pudrición de la raíz. Es adecuado para cultivos como pimiento, algodón, oleaginosas, caña de azúcar, bananos y hortalizas.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de 1%.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 10 g/kg de semilla. Aplicación al suelo: 1-2 kg/ha.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Prathibha Biotech. India (Trichorich..., 2019).

## TRICHOSTAR

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos del suelo, pudrición del cuello,

raíz y tallo, marchitez, manchas foliares en caña de azúcar, cereales, flores, leguminosas, oleaginosas.

**Modo de acción:** promotor del crecimiento e inductor de resistencia sistémica.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^6$  UFC/g.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Super Agro Pvt. Ltd Kolkata. India (Trichostar, 2019).

### TRIFESOL 1000 WP

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento (*Rhizoctonia solani*), mancha foliar (*Helminthosporium oryzae*, *Sarocladium oryzae*) y pudrición del pie (*Gaeumannomyces graminis*) del arroz.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas, utilizar 500 g/t de semilla. Aplicación al suelo 15 días después de la emergencia, utilizar 500 g/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 7146).

**Empresa fabricante:** Biocultivos S.A. - Bodegas de Gradinsa bodega n<sup>a</sup> 8 Papayo, Ibagué, Departamento de Tolima - Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Trifisol, 2019).

### TRIFESOL WP

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* en el arroz.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^7$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** para el tratamiento de semillas utilizar 500 g/t de semillas. Aplicación al suelo 15 días después de la emergencia, utilizar 500 g/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 4748).

**Empresa fabricante:** Biocultivos S.A. - Bodegas de Gradinsa bodega n 8 Papayo, Ibagué, Departamento de Tolima - Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Trifisol, 2019).

### TRIFESOL 1000 SC

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento (*Rhizoctonia solani*), mancha foliar (*Helminthosporium oryzae*, *Sarocladium oryzae*) y pudrición del pié (*Gaeumannomyces graminis*) del arroz y volcamiento (*Rhizoctonia solani*) en café.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene  $1 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Método de aplicación:** para el tratamiento de semillas, utilizar 500 mL/t de semilla. Aplicación al suelo 15 días después de la emergencia, utilizar 500 mL/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 7147).

**Empresa fabricante:** Biocultivos S.A. - Bodegas de Gradinsa bodega n° 8 Papayo, Ibagué, Departamento de Tolima - Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Trifisol, 2019).

## TRIFESOL SC

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani*, en el arroz.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene  $1 \times 10^7$  UFC/g.

**Método de aplicación:** para el tratamiento de semillas, utilizar 500 mL/t de semilla. Aplicación al suelo 15 días después de la emergencia, utilizar 500 mL/ha.

**Registro y comercialización de productos:** Colombia (ICA 5886).

**Empresa fabricante:** Biocultivos S.A. Bodegas de Gradinsa, bodega, Papayo, Ibagué, Tolima, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Trifisol, 2019).

## TRIKHODERMIN

**Principio activo:** *Trichoderma viride* F395 (LLA-831).

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium oxysporum*, *Ascochyta pisi*, *Peronospora pisi*, *Erysiphe communis* en guisantes y soja; *Xanthomonas campestris*, *Erwinia carotovora*, *Pythium debaryanum*, *Fusarium oxysporum* y otros fitopatógenos de plántulas de la col; *Peronospora* sp., *Phoma lingam*, *Fusarium oxysporum* y *Xanthomonas* sp. en perejil y mostaza; *Fusarium* sp., *Peronospora* sp., *Ascochyta melonis*, *Erysiphe cucurbitacearum*, *Pythium debarianum* y otros fitopatógenos de plántulas de pepino y calabaza; *Macrosporium solani*, *Phytophthora infestans*, *Verticillium albo-atrum*, *Pythium debaryanum* y otros fitopatógenos de plántulas en tomate, ají y berenjena; *Phytophthora infestans*, *Streptomyces scabiei*, *Spondilocladium atrovirens*, *Pectobacterium phytophthorum* y *Rhizoctonia solani* en papa; *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*

y *Thielaviopsis basicola* en algodón; *Fusarium culmorum*, *Helminthosporium sativum*, *Puccinia graminis* y *Erysiphe graminis* en cereales de invierno; *Sclerotinia sclerotiorum*, *Plasmopara helianthi* y *Puccinia helianthi* en girasol.

**Modo de acción:** parasitismo, competencia, producción de enzimas y metabolitos.

**Características del agente de control biológico:** debido a su alta actividad biológica, coloniza el sustrato y descompone los compuestos orgánicos, liberando nutrientes asimilables por la planta.

**Formulación:** líquido.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas/tubérculos: guisantes y soja (0,3 - 1 L/t), col (0,03 - 0,1 L/kg), perejil, eneldo y mostaza (0,03 - 0,1 L/kg), pepino y calabaza (0,03 - 0,1 L/kg), tomate, ají y berenjena (0,03 - 0,1 L/kg), cereales de invierno (0,5 - 1 L/t), girasol (0,5 - 1 L/t) y cultivos de raíces/tubérculos - remolacha, zanahoria, papa, etc. (0,5 - 1 L/t). El producto tiene recomendaciones especiales para cultivos de tomate y pepino cultivados en ambientes protegidos, variando estas recomendaciones de acuerdo con el cultivo, forma de aplicación y época de aplicación.

**Registro y comercialización de productos:** Rusia.

**Empresa fabricante:** Биобауэр ООО. 603058, Nizhny Nóvgorod, Rua Suzdalskaya, 62. (603058, город Нижний Новгород, улица Суздальская, дом 62), Rusia (Trikhodermin, 2018).

## TRICHO GUARD

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Alternaria*, *Pythium*, *Macrophomina*, *Myrothecium*, *Cercospora*, *Phytophthora* y *Botrytis*.

**Modo de acción:** protege las plántulas del ataque de patógenos transmitidos por el suelo, promueve el crecimiento de las plantas, coloniza las raíces, aumenta la biomasa y la salud de las raíces. Competencia, parasitismo, inducción de resistencia en la planta y promotor del crecimiento.

**Características del agente de control biológico:** se puede aplicar como tratamiento de semillas con metalaxil, mancozeb, carbendazim y cloruro de cobre.

**Formulaciones disponibles:** concentrado emulsionable que contiene 10<sup>9</sup> UFC/mL y polvo mojable que contiene 10<sup>7</sup> UFC/g.

**Métodos de aplicación:** vía “*drench*”: 1,5 a 2 kg/1.000 L de agua. Tratamiento de semillas: 8 a 10 mL/kg de semillas. Tratamiento de plántulas: 5 a 6 mL/L de agua para sumergir las raíces.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Ajay Bio-Tech Ltd., India (Tricho-Guard..., 2019).

### **TRICHODERMA BIO-FUNGICIDE**

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Macrophomina phaseoli*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Armillaria mellea*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium*, *Sclerotinia* y *Sclerotium*.

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis, competencia, tolerancia al estrés, solubilización de fosfato, resistencia inducida y promotor del crecimiento.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^8$  UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** aspersión: 1 kg/200 L de agua. Tratamiento de semillas: 5 g/kg de semilla. Tratamiento del suelo: 1 kg/25 kg de estiércol de vaca y aplicar en la preparación del suelo. Preparación de canteros: 500 g/100 L de agua. Goteo: 500 g/100 L de agua.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Ruchi Biochemicals, India (Trichoderma..., 2018).

### **TRICHO-SHIELD COMBAT**

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz, volcamiento y marchitez.

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis y promotor del crecimiento.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^6$  UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Métodos de aplicación:** vía “drench”, en el suelo y aplicación foliar. Dosis no suministradas.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Kan Biosys Pvt. Ltd. India (Tricho-Shield..., 2018).

### **TRICHOLIFE**

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Phytophthora*, *Botrytis*, etc.

**Modo de acción:** inducción de resistencia en la planta, parasitismo, antibiosis y promotor del crecimiento.



**Formulaciones disponibles y vida útil:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^8$  UFC/g.

Vida útil: 12 meses cuando es almacenado en lugar fresco y seco.

**Métodos de aplicación:** aplicación al suelo: mezclar 1 kg/25 - 50 kg de estiércol por cada hectárea y aplicar alrededor de la zona de la raíz de la planta. Aspersión: 1 kg/200 L de agua/ha. Se recomienda aplicar 60 días antes y 15 días después de la siembra.

**Registro y comercialización de productos:** India.

**Empresa fabricante:** Gujarat Life Science, India (Tricholife..., 2018).

## TRIECO

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Phytophthora*, *Botrytis*, etc.

**Modo de acción:** inductor de resistencia en la planta, promotor del crecimiento, competencia y la antibiosis.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene  $10^8$  UFC/g. Vida útil: 12 meses cuando almacenado en lugar fresco y seco.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 4 - 8 g/10 mL de agua por 1 kg de semilla. Tratamiento de rizomas y tubérculos: 500 g/100 L de agua. Aplicación al suelo: 1,5 kg/25 kg de abono orgánico y distribuir uniformemente en el suelo. Vía “*drench*”: 500 g/100 L de agua para remojar 400 m<sup>2</sup> en el lugar donde se observen los síntomas de marchitez o pudrición de la raíz.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Ecosense Labs Ltd. India (Trieco..., 2019).

## YASH DERMA

**Principio activo:** *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Phytophthora* y *Botrytis*.

**Modo de acción:** antibiosis, parasitismo y promotor del crecimiento.

**Formulación:** polvo mojable.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semilla en seco: 10 - 20 g/100 mL de agua/kg de semilla. Tratamiento de plántulas: 10 g/L de agua y remojar las raíces durante 15 minutos antes del trasplante. Aplicación al suelo: 1 kg/50 kg de estiércol, cubrir con polietileno durante 15 días y humedecer de 3 a 4 veces; después de ese período esparcir en 1 hectárea de suelo. Aspersión: 10 g/100 L de agua.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Yash Krishi Takniki Evam Vigyan Kendra India (Yash ..., 2018).

### *Trichoderma stromaticum*

#### **TRICOVAB**

**Principio activo:** *Trichoderma stromaticum* CEPLAC 3550.

**Enfermedades y patógenos que controla:** escoba de bruja del cacao causada por *Moniliophthora perniciosa*.

**Modo de acción:** parasitismo e inhibición de la formación de los basidiomas del fitopatógeno.

**Formulación:** polvo mojable (PM) a una concentración de  $2,3 \times 10^8$  conidios/g.

**Métodos de aplicación:** aplicado sobre escobas de bruja ya secas en el suelo o en la copa de los árboles de cacao.

**Registro y comercialización del producto:** Brasil (Mapa 01312).

**Empresa fabricante:** Comité Ejecutivo del Plan de Plantación de Cacao/Centro de Investigación del cacao. Km 22 de la Carretera Ilhéus/Itabuna, 45600-970-Itabuna, BA, Brasil (Agrofit, 2003c).

### *Trichoderma spp.*

#### **BIOSPARK**

**Principio activo:** *Trichoderma* spp.

**Enfermedades y patógenos que controla:** se utiliza en maíz, arroz, hortalizas, mango, bananos, caña, piña y plantas de jardín para controlar *Phytophthora*. Eficaz como biofertilizante, promotor del crecimiento y agente de compostaje.

**Formulación y vida útil:** El producto consta de tres cepas de hongos tropicales aisladas de bosques de Filipinas. El medio orgánico seco que contiene los hongos latentes contiene  $1,2 \times 10^8$  UFC/g. Vida útil de 24 meses. El producto se puede almacenar en condiciones ambientales.

**Métodos de aplicación:** se puede aplicar a semillas, siembra y residuos de cultivos.

**Registro y comercialización del producto:** Filipinas.

**Empresa fabricante:** Biospark Corp., Filipinas (Biospark ..., 2019).

#### **BIO-IMPILO**

**Principio activo:** *Trichoderma* spp.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Plasmopara viticola* y *Leptosphaeria maculans*.

**Modo de acción:** inhibe el crecimiento y la actividad de los patógenos e induce resistencia. Los metabolitos promueven el aumento del crecimiento de las plantas, influyendo en la producción de raíces y brotes.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2 \times 10^9$  conidios/g. Preferiblemente almacenado entre 5 y 20 °C.

**Métodos de aplicación:** aspersión: 1 L/ha en hortalizas; en vid, arbustos y árboles la recomendación es 1 - 2 L/ha. Realice la primera aplicación en plántulas a principios de primavera (4-6 hojas abiertas), la segunda aplicación unos días antes de la floración y la tercera después de la cosecha. Aplicaciones adicionales solo cuando el contenido de grados Brix de la savia de la planta indique una caída importante.

**Registro y comercialización del producto:** Sudáfrica.

**Empresa fabricante:** Agro-Organics Ltd, Sudáfrica (Bio-Impilo ..., 2019).

## EXCALIBUR GOLD PBTM

**Principio activo:** *Trichoderma* spp.

**Enfermedades y patógenos que controla:** enfermedades de las raíces.

**Modo de acción:** colonización del sistema radical y promotor de crecimiento.

**Formulación:** polvo mojable que contiene 2% de ingrediente activo y 98% inerte, 80% del cual talco y 20% grafito.

**Métodos de aplicación:** tratamiento de semillas: 30 g/45 kg de semilla. Para aplicación por inmersión: preparar la suspensión colocando un paquete de producto/3 L de agua no clorada y sumergir el sistema radical de las plantas en la mezcla durante 10 segundos o hasta cubrirlo suficientemente. Luego trasplante.

**Registro y comercialización del producto:** Sudáfrica

**Empresa fabricante:** ABM Africa Division (Advanced Biological Marketing). Sudáfrica (Excalibur, 2018).

## HASIRU LIQUID TRICHODERMA

**Principio activo:** *Trichoderma* spp.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia* y *Sclerotinia*.

**Modo de acción:** antibiosis, inducción de resistencia en la planta y parasitismo.

**Formulación y vida útil:** concentrado emulsionable. Vida útil de 12 meses en lugar fresco y seco.

**Métodos de aplicación:** riego: 1 L/200 L de agua. Vía “*drench*”: 1 L/200L de agua. Tratamiento de semillas: 1 L/5 ha.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Hasiru Organics. India (Hasiru ..., 2019b).

## ICB NUTRISOLO TRICHODERMA

**Principio activo:** *Trichoderma* spp.

**Indicación:** bioestimulante y promotor del crecimiento

**Modo de acción:** promotor de crecimiento.

**Registro y comercialización del producto:** comercializado en Brasil como inoculante.

**Empresa fabricante:** ICB Bioagritec Ltda. Rua Arabutan, 386, Porto Alegre, RS. Brasil (ICB ..., 2019).

## TRICHOBIO

**Principio activo:** *Trichoderma* spp.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium solani*, *Phytophthora* spp. y *Rhizoctonia solani*, causantes del volcamiento en soja.

**Modo de acción:** antibiosis, antagonismo, parasitismo, competencia y bioestimulación.

**Características del agente de control biológico:** es un producto formulado a base de cepas de *Trichoderma* spp., utilizadas como biofugincida y bioestimulante de enraizamiento.

**Formulación:** polvo mojable que contiene 200 g/kg.

**Método de aplicación:** para el cultivo de soja: de 600 g a 1 kg/ha en aplicación foliar. Para el tratamiento de semillas: 1 kg/2000 kg de semillas de soja. Aplicación foliar y dirigida al suelo: 200 g/ha. Aplicación en el trasplante de plántulas: 50 g/5 L de agua. Tratamiento del sustrato: 200 g/m<sup>3</sup>.

**Registro y comercialización del producto:** Bolivia (SENASAG 3361).

**Empresa fabricante:** BioSae Biotecnología y Servicios Agroecológicas. Calle José Vicente

Soliz, 14, La Guardia, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia (Bolivia, 2019; Trichobio ..., 2018).

## TRICODAMP

**Principio activo:** *Trichoderma* spp.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo causantes del volcamiento.

**Modo de acción:** antibiosis y parasitismo.

**Características del agente de control biológico:** no mezclar con productos químicos e inoculantes.

**Formulación:** concentrado emulsionable.

**Método de aplicación:** tratamiento de semillas de soja, chíá, quinua, trigo, sorgo, gerbera, habas, papa, etc. Tratamientos de plántulas y aplicación foliar.

**Registro y comercialización del producto:** Bolivia (SENASAG O434).

**Empresa fabricante:** Probiotec Probiología y Tecnología. Barrio Equipetrol, Calle Córdoba 7 este 29. Santa Cruz, Bolivia (Bolivia, 2011c; Tricodamp..., 2019).

## TUSAL WG

**Principio activo:** *Trichoderma* spp.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* sp., *Pythium* sp. y *Phytophthora* sp. en ají, tomate, pepino, calabacín, berenjena y escarola.

**Modo de acción:** TUSAL contiene varias especies de *Trichoderma* antagonista de hongos fitopatógenos en el suelo con acción de parasitismo directo. *Trichoderma* actúa por parasitismo, antagonismo, inducción de resistencia y antibiosis. La combinación de diferentes especies garantiza la eficacia del producto. Por otro lado, brindan importantes beneficios nutricionales que involucran la estimulación del desarrollo.

**Formulación:** microgranulado soluble que contienen  $2 \times 10^8$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** aplicar por goteo en el campo y semilleros. Se recomienda aplicar al inicio del cultivo para mantener al antagonista en el suelo.

**Registro y comercialización del producto:** España (24.244).

**Empresa fabricante:** NewBiotechnic SA (NBT) España (Tusal..., 2018).

## *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma gamsii*

### BIOTAM

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* (ICC 012) y *Trichoderma gamsii* (ICC 080).

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz causada por *Armillaria* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Rosellinia* spp., *Sclerotinia* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Thielaviopsis basicola* e *Verticillium* spp. alfalfa, cereales, algodón, soja, gramíneas, oleaginosas, tabaco, tubérculos, cítricos, ajo, cebolla, piña y hortalizas, entre otros.

**Modo de acción:** competencia con fitopatógenos y liberación de enzimas que atacan las paredes celulares de patógenos (BIOTAM, 2018).

**Características del agente de control biológico:** *Trichoderma gamsii* actúa en el rango de temperatura de 7 °C y *T. asperellum* de 12 °C. El rango de temperatura óptimo es de 25 a 30 °C.

**Formulación:** polvo mojable que contiene *Trichoderma asperellum* ICC 012 a una concentración de  $5 \times 10^6$  UFC/g y *Trichoderma gamsii* ICC 080 a una concentración de  $5 \times 10^6$  UFC/g.

**Método de aplicación:** pulverización (surco de siembra, suelo, líneas de siembra) y en un sistema de riego.

**Registro y comercialización del producto:** EE. UU. Certificado por Materials Review Institute - OMRI y Washington State Department of Agriculture – WSDA.

**Empresa fabricante:** Isagro USA. 430 Davis Dr. Suite 240 Morrisville, NC 27560. Estados Unidos (Biotam, 2018).

## BIOTEN

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* ICC 012 y *Trichoderma gamsii* ICC 080.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae*, *Thielaviopsis basicola* y *Phytophthora capsici* en césped, flores, plantas ornamentales, hortalizas, melón, hinojo, alcachofa, albahaca, apio, frijoles, calabacín, berenjena, pepino y hierbas aromáticas.

**Modo de acción:** competencia por espacio y elementos nutritivos e inhibición del crecimiento y difusión de patógenos del suelo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene 2 g de *Trichoderma asperellum* ICC012; 2 g de *Trichoderma gamsii* ICC080; totalizando la concentración mínima total de  $3 \times 10^7$  UFC/g.

**Métodos de aplicación:** debe aplicarse de forma preventiva en las diferentes fases fenológicas del cultivo, evitando así que se produzca la infección. Se recomienda utilizar cuando la temperatura del suelo sea superior a 10 °C. Para una distribución homogénea se recomienda utilizar un volumen de agua de 1000 L/ha. En césped y plantas ornamentales diluir en agua y aplicar en el riego o asperjar las plantas. Debe aplicarse al suelo donde se desarrolle rápidamente y colonice las raíces y la rizosfera, creando una barrera física que evite que los patógenos accedan a los órganos que ataca.

**Registro y comercialización del producto:** Unión Europea, Estados Unidos e Italia.

**Empresa fabricante:** Bayer CropScience S.R.L. Viale Certosa 130, 20156 Milán, Italia. Distribuido por: ICL Italia Terviso srl. Via Monterumici, 8, 31100, Treviso, Italia (Bioten..., 2015).

## REMEDIER

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* ICC 012 y *Trichoderma gamsii* ICC 080.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos del suelo como *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Thielaviopsis basicola*, *Verticillium dahliae*, *Armillaria mellea* en plantas ornamentales, césped, vid, frutales, arbustos y agentes causantes de la esca de la vid.

**Modo de acción:** competencia, parasitismo e inducción de resistencia a patógenos en plantas hospedantes.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $3 \times 10^7$  UFC/g.

**Forma de aplicación:** se puede aplicar mediante fertirrigación, aspersión o cualquier otro sistema que coloque los conidios en el suelo para la colonización de las raíces. En pregerminación el producto debe mezclado en agua a temperatura ambiente unas 24 horas antes del tratamiento para iniciar la germinación de los conidios.

**Registro y comercialización del producto:** Unión Europea y EE. UU.

**Empresa fabricante:** Isagro S.p.A. Via Caldera, 21, 20153, Milán, Italia (Remedier..., 2017).

## TENET WP

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum* (ICC 012) y *Trichoderma gamsii* (ICC 080).

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz causada por *Armillaria* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Rosellinia* spp., *Sclerotinia* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Thielaviopsis basicola* y *Verticillium* spp. en alfalfa, cereales, algodón, soja, gramíneas, oleaginosas, tabaco, tubérculos, cítricos, ajo, cebolla, piña, hortalizas, entre otros.

**Modo de acción:** competencia y producción de enzimas que atacan las paredes de los fitopatógenos.

**Características del agente de control biológico:** *Trichoderma gamsii* actúa en el rango de temperatura de 7 °C y *Trichoderma asperellum* de 12 °C. El rango de temperatura óptimo es de 25 a 30 °C. Activo opera en una amplia gama de cultivos.

**Formulación:** polvo mojable que contiene *Trichoderma asperellum* ICC 012 a una concentración de  $5 \times 10^6$  UFC/g y *Trichoderma gamsii* ICC 080 a una concentración de  $5 \times 10^6$  UFC/g.

**Forma de aplicación:** aspersión (en el surco de siembra, suelo o sobre la línea de siembra) y a través del sistema de riego.

**Registro y comercialización del producto:** EE. UU. Está certificado por Materials Review Institute - OMRI e Washington State Department of Agriculture - WSDA.

**Empresa fabricante:** Isagro USA. 430 Davis Dr. Suite 240 Morrisville, NC 27560. Estados Unidos (Tenet-Wp..., 2018).

### *Trichoderma atroviride y Trichoderma virens*

#### KIWIVAX

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride* LU668, *Trichoderma atroviride* LU297 y *Trichoderma virens* LU753.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* en kiwi.

**Modo de acción:** colonización de la raíz induciendo resistencia sistémica al patógeno.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $5 \times 10^8$  UFC/g de *Trichoderma atroviride* LU668,  $5 \times 10^8$  UFC/g de *Trichoderma atroviride* LU297 y  $5 \times 10^8$  UFC/g de *Trichoderma virens* LU753.

**Forma de aplicación:** en vivero: 200 g/ha (se recomiendan dosis mayores en suelos con bajo contenido de materia orgánica). Aplicar 1000 L/ha por aspersión. Se recomiendan tres aplicaciones por año para la colonización activa de raíces. Plántulas y plantas jóvenes: 200 g/100 L de agua y aplicar en los tubos o plantas jóvenes antes de colocar en las bolsas o de plantar en el campo. Aplicar sumergiendo o inundando las raíces. Aplicar a plántulas y plantas jóvenes en el momento de la siembra.

**Registro y comercialización del producto:** Nueva Zelanda (ACVM P9340).

**Empresa fabricante:** Agrimm Technologies Ltd. 487 Tancreds Rood PO Box 35, Christ Church 8150, Nueva Zelanda. Agrimm Pty Ltd 10 Northgate Street (PO Box 258) Mooroopna, Victoria 3629, Australia (Kiwivax ..., 2017).

### *Trichoderma harzianum y Trichoderma koningii*

#### PROMOT WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningii*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Phytophthora*, *Sclerotinia*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium* y *Phomopsis*.

**Formulación:** polvo mojable que contiene *Trichoderma koningii* ( $3 \times 10^7$  conidios/g) y *Trichoderma harzianum* ( $2 \times 10^7$  conidios/g).

**Registro y comercialización del producto:** Alemania, como biofortificante.



**Empresa fabricante:** Biofa AG. (Sistemas de agricultura biológica), Rudolf-Diesel Str.2, D-72525, Alemania (Promot, 2019).

### TRICHOTROPICO WP

**Ingrediente activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* en arroz.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^8$  conidios viables/g de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningii*.

**Forma de aplicación:** aplicación foliar a partir del período de máximo macollamiento, antes de la emergencia de la panícula, momento en el que su presencia es más común y el daño es más severo. Se recomienda una primera aplicación (inundativa), 1.000 g/ha, continuando con aplicaciones periódicas, al menos cada 10 días, con dosis menores entre 500 y 750 g/ha, según los niveles de incidencia y severidad, así como las condiciones climáticas que favorecen a *Rhizoctonia solani*.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 5970).

**Empresa fabricante:** Soluciones Microbianas del Trópico S.A.S - km 2 vía Palestina, Parque Industrial las Delicias, Bodega 15, Chinchiná, Caldas, Colombia (Trichotropico ..., 2013; Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

### TRICHOGEL

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningii*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* en café.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** gel emulsionable que contiene  $1 \times 10^8$  conidios viables/g de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningii*.

**Forma de aplicación:** mezclar con agua en el momento de la preparación, antes de su aplicación. Se distribuye en unidades de 170 y 440 g en la solución disolvente.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 11161).

**Empresa fabricante:** Soluciones Microbianas del Trópico S.A.S. Km 2 vía Palestina, Parque Industrial las Delicias, Bodega 15, Chinchiná, Caldas, Colombia (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Trichogel..., 2019).

## TRICOX

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningii*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Meloidogyne incognita* y *Phytophthora capsici*.

**Características del producto:** estimula el crecimiento de las raíces, promueve el crecimiento y el desarrollo de las plantas, promueve la floración y mejora la productividad y la calidad de los cultivos.

**Formulación:** polvo mojable que contiene *Trichoderma koningii* ( $3 \times 10^7$  conidios/g) y *Trichoderma harzianum* ( $2 \times 10^7$  conidios/g).

**Forma de aplicación:** alcachofa: 1,5 a 2,75 kg/ha, iniciar la aplicación 15 días después del trasplante y repetir a los 30 días. Para maíz: 1,5 a 2 kg/ha, iniciar la aplicación en las primeras etapas fenológicas de cultivo o en la evaluación previa al inicio de la infestación.

**Registro y comercialización de producto:** Perú (SENASA PBUA 162) (Perú, 2019).

**Empresa fabricante:** JH BIOTECH INC. 4951, Olivas Park Drive Ventura, CA 93003, Estados Unidos (Perú, 2019; Tricox, 2011).

## *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningiopsis*

## TRICOTOP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningiopsis*.

**Efectos y Objetivos:** promotor del crecimiento en hortalizas, ornamentales, soja y frutales. Indicado para el control de *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp. y *Pythium* spp.

**Modo de acción:** favorece el crecimiento, competencia y antibiosis.

**Características del agente de control biológico:** promueve el crecimiento de las raíces, secreta fitohormonas que promueven el desarrollo y la condición sanitaria de las raíces, aumenta el volumen de las raíces y mejora la absorción de nutrientes y agua.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1,2 \times 10^{12}$  conidios/g.

**Forma de aplicación:** volcamiento: 5 g/m<sup>2</sup>. Tratamiento de semillas: hortalizas, ornamentales, soja y frutales - 50 g/ha. Para aplicación en surcos: 80 g/ha.

**Registro y comercialización del producto:** Bolivia (SENASAG 2068).

**Empresa fabricante:** BioTop - Cochabamba, Bolivia. [www.biotopbolivia.org](http://www.biotopbolivia.org) Fundación Proinpa - Avenida Menezes, S/N, Km 04, Cochabamba, Bolivia (Ortuño et al., 2011; Tricotop..., 2012).

## ***Trichoderma harzianum* y *Trichoderma polysporum***

### **BINAB T PELLET GR**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma polysporum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición del tallo (*Chondrostereum purpureum*) en almendra, cereza, ciruela, albaricoque, manzana, pera, melocotón y nectarina. Control de pudrición en vid causada por *Verticillium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium roseum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium moniliforme*, *Phomopsis mali*, *Phomopsis viticola*, *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Pythium*.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis, parasitismo e inducción de resistencia.

**Formulación:** gránulos en pellets con una concentración de  $2 \times 10^8$  UFC/g.

**Forma de aplicación:** se instala un pellet por cada 7-10 cm de perímetro de tronco o rama, a una profundidad de 3 cm, además de un pellet que debe llegar a la médula. Para los árboles con la enfermedad más avanzada, aumente la dosis en 50%. El diámetro de la perforación debe ser ligeramente mayor que el tamaño del pellet para permitir su posterior expansión. La aplicación del producto es segura y efectiva bajo cualquier condición climática de temperatura, viento y hora. Tratamiento del tronco, para árboles jóvenes un pellet cada 10 cm de perímetro del tronco. Para árboles adultos, un pellet cada 7 cm de perímetro del tronco.

**Registro y comercialización del producto:** Chile (SAG 2708).

**Empresa fabricante:** BINAB Bio-Innovation AB, Florettgatan 5 SE-254 67 Helsingborg, Suecia (Binab..., 2018).

### **BINAB-T WP**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma polysporum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** marchitez vascular, pudrición del tallo y raíz causadas por *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium roseum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium moniliforme*, *Botrytis* sp., *Verticillium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phomopsis mali*, *Phomopsis viticola*, *Phomopsis vaccini*, *Phomopsis obscurans*, *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Pythium* sp., *Heterobasidium* sp., *Chondrostereum purpureum*, *Botrytis* sp., *Pythium* sp., *Armillaria mellea* y *Lentinus* sp. En cultivos de tomate, melón, sandía, papa, lechuga, espinaca, melocotón, nectarina, ciruela, almendra, manzana, pera, uva, fresa, arándano, frambuesa y frutos del bosque.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis, inducción de resistencia y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^5$  UFC/g de producto.

**Forma de aplicación:** tratamiento del tronco con 5 - 17 g/L de agua. Aplique en las heridas y/o cortes de poda una o dos veces en la temporada. Patógenos del suelo: use una dosis

de 50 a 100 g/m<sup>3</sup> de suelo o 0,1 – 0,2 g/planta. Repita cada cuatro semanas, si es necesario con un máximo de cada cuatro semanas. Patógenos de la parte aérea: utilizar una dosis de 0,25 - 0,5 kg/ha, desde floración y repetir cada 15 días con un máximo de 5 aplicaciones por temporada.

**Registro y comercialización del producto:** Chile (SAG 2102).

**Empresa fabricante:** BINAB Bio-Innovation AB, Florettgatan 5 SE-254 67 Helsingborg, Suecia. Agro Connexion. Santiago, Chile (Binab..., 2018; Chile, 2019).

### **BINAB (BINAB T PELLETS, BINAB TF WP, BINAB T WG, BINAB T VECTOR)**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma polysporum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium roseum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium moniliforme*, *Botrytis* sp., *Verticillium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phomopsis mali*, *Phomopsis viticola*, *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Pythium* sp., *Heterobasidium* sp., *Chondrostereum purpureum*, *Armillaria mellea*, *Lentinus* sp., *Phomopsis vaccinii* y *Phomopsis obscurans* en árboles frutales.

**Modo de acción:** parasitismo y colonización de la planta hospedante.

**Formulaciones disponibles:** pellets y polvo mojable que contienen *Trichoderma polysporum* (IMI 206039) 32% p/p (320 g/kg), *Trichoderma harzianum* (IMI 206040) 32% p/p (320 g/kg) y excipientes c.s.p.c. 100% p/p (1 kg). Contiene un mínimo de 100.000 UFC/g. No se informó la formulación de los productos Binab Bär y Binab Vector.

**Forma de aplicación:** utilizado en heridas de podas y cortes en tomate, melón, nectarina, ciruela, almendra, pera y vid aplicando 5 - 17 g/L de agua. Binab también se puede utilizar para el control de patógenos del suelo en una cantidad de 50 a 100 g/m<sup>3</sup> de suelo con 0,1 - 0,2 g/planta para vid, melocotón, nectarina, fresa, frambuesa y arándano.

**Registro y comercialización del producto:** Binab T Pellets y Binab TF WP se comercializan en Suecia, Dinamarca, EE. UU. y Chile (importados por Agro-Connexion). En Alemania, el producto está registrado como biofortificante. Binab T Vector se comercializa en Suecia, Dinamarca y Estados Unidos.

**Empresa fabricante:** Binab Bio-Innovation AB: <http://binab.se/>. Suecia (Binab ..., 2018).

### ***Trichoderma harzianum* y *Trichoderma virens***

#### **ROOTSHIELD PLUS WP; ROOTSHIELD PLUS GRANULES**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* T-22 y *Trichoderma virens* G-41.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición causada por *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Thielaviopsis*, *Phytophthora* y *Cylindrocladium* en mora, arándano, grosella, frambuesa, fresa, ajo, puerro, cebolla, ornamentales de bulbo, naranja, pomelo, lima, pepino, melón, calabaza, flores y plantas ornamentales, berenjena, tomate, ají, hierbas, especias y menta, cultivos hidropónicos (pepino, tomate, lechuga, hierbas y especias), rúcula, apio, escarola, lechuga, col, acelga, mostaza, pera, membrillo, albaricoque, cereza, melocotón, ciruela, nectarina, almendra, nuez, castaña, macadamia, pistacho, papa, batata, ñame, jengibre y en vivero (arce, roble, uva, pino, etc.). RootShield Plus Granules también se recomienda para frijoles, soja, lentejas, guisantes, algodón, canola, girasol, trigo, maíz y espárragos.

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis, competencia, solubilización de nutrientes inorgánicos para la absorción vía raíz, inducción de resistencia e inactivación de enzimas patógenas involucradas en el proceso de infección (Rootshieldplus, 2018).

**Características del agente de control biológico:** protege a la planta contra enfermedades de la raíz, durante 10 a 12 semanas después de su aplicación. El hongo crece a un pH de 4 a 8 y una temperatura de 9 a 36 °C.

**Formulaciones disponibles:** RootShield Plus WP se comercializa como polvo mojable que contiene *Trichoderma harzianum* T-22 a una concentración de  $1 \times 10^7$  UFC/g, *Trichoderma virens* G-41 a una concentración de  $5,3 \times 10^6$  UFC/g. Se recomienda mantener al producto refrigerado. La vida útil es de seis meses entre 10 y 25 °C, nueve meses entre 0 y 10 °C y 12 meses a 0 °C. RootShield Plus Granules está formulado en gránulos que contienen las mismas concentraciones que RootShield Plus WP.

**Forma de aplicación:** RootshieldWP es un fungicida biológico preventivo para el control de enfermedades de plantas. El producto está recomendado para tratamiento de semillas, órganos de propagación, aplicación al suelo y asperjado sobre plantas. Se puede aplicar solo y/o en mezcla de tanque. El producto RootShield Plus Granules se puede aplicar a diferentes tipos de suelo, en una mezcla a base de turba, fibra de coco, así como sustrato utilizado en cultivo hidropónico. Además, se puede aplicar en mezcla y rotación con algunos fungicidas, insecticidas, fertilizantes.

**Registro y comercialización del producto:** Unión Europea, EE. UU. y Canadá. El producto está certificado por More Profitable Sustainability - MSP y Ecocert en Canadá y por Organic Materials Review Institute - OMRI en los Estados Unidos.

**Empresa fabricante:** BioWorks, Inc. 100 Rawson Road Suite 205, Victor, NY 14564, EE. UU. (Rootshield-plus..., 2018a, 2018b).

## **Trichoderma harzianum y Trichoderma viride**

### **FERTIMAX**

**Principio activo:** *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia homoeocarpa* y *Ustilago tritici*.

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis y competencia.

**Características del agente de control biológico:** secreta enzimas celulasa y quitina, destruye hongos patógenos, secretando sustancias tóxicas, como glioxina, viridina y tricotodermina.

**Formulación y vida útil:** líquido soluble que contiene  $2 \times 10^9$  UFC/mL. Vida útil: 2 años.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Skymax Crop Science Ltd. India (Fertimax..., 2019).

### **POABS GREEN**

**Principio activo:** *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Phytophthora capsici* en ají, *Pythium* sp., *Pythium aphanidermatum*, *Pythium vexans*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* en jengibre, *Rosellinia arcuata* en té y nematodos de la raíz de la mayoría de los cultivos.

**Modo de acción:** competencia.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Poabs Biotech. India (Poabs ..., 2019).

### **RADIX**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae*, *Thielaviopsis basicola* y *Phytophthora capsici* en flores, plantas ornamentales y hortícolas.

**Modo de acción:** compete por el espacio y la nutrición con patógenos del suelo y puede actuar mediante la liberación de enzimas que atacan las paredes celulares de los parásitos.

**Formulación:** polvo mojable que contiene *Trichoderma harzianum* ICC O12 a una concentración de  $5 \times 10^7$  UFC/g y *Trichoderma viride* ICC O80 a una concentración de  $5 \times 10^7$  UFC/g.

**Forma de aplicación:** según indicaciones del producto se debe diluir el producto 24 horas antes de la aplicación, en la proporción de menos de 1 kg/10 L de agua para estimular

la germinación de los conidios. Aplicar el producto solo y 10 días antes de aplicar otros productos. Puede utilizarse en fertiirrigación. Conservar a temperaturas inferiores a 30 °C, en lugar seco y no expuesto a la luz.

**Registro y comercialización del producto:** Italia.

**Empresa fabricante:** Certis Europe, Italia (Radix..., 2012).

## TRICH-A-SOIL

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo, como *Fusarium* sp. y *Pythium spinosum*.

**Modo de acción:** competencia.

**Características del producto:** aplicar en el surco de siembra cercano a las semillas para garantizar la actividad biológica del ingrediente. Sensible a las aplicaciones conjuntas con fungicidas. Así, es fundamental volver a aplicar el producto después de las aplicaciones de fungicidas químicos.

**Formulación:** gránulo dispersable que contiene  $5 \times 10^{10}$  UFC/g.

**Forma de aplicación:** plántulas: 20 g/100 m<sup>2</sup> al momento de la siembra, durante la emergencia y una semana antes del trasplante. Campo: 1,25 kg/ha al momento de la siembra.

**Registro y comercialización del producto:** Australia.

**Empresa fabricante:** Organic Crop Protectants Pty Ltd. Fabricado por Metcalf Biotechnologies 211 Wyre Forest Road, Molesworth Tasmania, Australia 7140. Unit 1/61, Turrella St, TURRELLA NSW 2205. [www.ocp.com.au](http://www.ocp.com.au) (Trich- a- Soil ..., 2012).

## VALERY PLUS

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Botrytis cinerea* en vid.

**Modo de acción:** parasitismo, antibiosis y competencia. La aplicación debe estar dirigida a la zona afectada por la enfermedad.

**Formulación:** polvo mojable que contiene *Trichoderma harzianum* ( $2,3 \times 10^9$  UFC/g) y *Trichoderma viride* ( $2,3 \times 10^9$  UFC/g).

**Forma de aplicación:** tratamiento foliar con 0,5 a 1 kg/ha. Se recomienda aplicar al momento de la aparición de la enfermedad o cuando las condiciones climáticas sean favorables para el desarrollo de la enfermedad, preferiblemente de forma preventiva.

**Registro y comercialización de producto:** Perú (SENASA PBUA O30).

**Empresa fabricante:** Agrobioticos. Lima, Perú. <http://agrobioticos.com/productos-2/valery-plus/> (Perú, 2019).

### *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma lignorum* y *Trichoderma koningii*

#### NUTRI-LIFE TRICHO-SHIELD

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma lignorum* y *Trichoderma koningii*.

**Indicación:** Promotor del crecimiento de plantas y raíces.

**Modo de acción:** promotor de crecimiento asociado con los metabolitos producidos por *Trichoderma*.

**Características del producto:** este producto requiere tamizado cuando se aplica con equipo de aspersión. Antes de la aplicación, mezcle el producto con agua para formar una pasta. Espere una hora, luego agregue por fertirrigación o al tanque aspersión.

**Formulación:** polvo mojable a base de talco.

**Forma de aplicación:** aplicación foliar: 1 kg/ha o 5 g/L de agua para aspersiones localizadas. Aplicación al suelo en cultivos anuales: 1 - 2 kg/ha. Aplicar con la primera fertirrigación. Repita después de cuatro semanas. Cultivos arbóreos: 1 kg/ha o 5 g/L de agua a principios de la primavera. Tratamiento de plántulas: sumergir las plántulas en una suspensión acuosa de 5 g/L. Tratamiento de semillas: hortalizas - 5 g/kg de semillas. Esquejes: 10 g/L de agua para inmersión.

**Registro y comercialización del producto:** Australia. Certificado por Australian Certified Organic (ACO) Registered Farm Input 456AI.

**Empresa fabricante:** Biological solutions Nutri-Tech Solutions P/L (NTS) 7 Harvest Road. Yandina. Queensland 4561, Australia (Nutri-Life..., 2017b).

### *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma virens* y *Trichoderma parceramosum*

#### TRICHONATIVA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma virens* y *Trichoderma parceramosum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** moho gris, pudrición del fruto y sarna del manzano (*Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Venturia inaequalis*) en el manzano; Pudrición de raíces y tallos causada por *Phytophthora fragariae*, *Phytophthora citricola*, *Armillaria mellea*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora dreschleri*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora cryptogea*, en cultivos de frambuesa, arándano, fresa, manzana, pera, cereza, melocotón, avellana, aguacate, olivo, naranja, mandarina, limón y pomelo; moho gris causado por *Botrytis cinerea* en cereza, uva, frambuesa, arándano, fresa, granada



y kiwi; pudrición del fruto (*Fusicoccum* sp.) en arándano; pudrición del fruto causada por *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora fragariae*, *Phytophthora cryptogea* en papaya; y marchitez por *Verticillium*, moho blanco y pudrición del tallo causada por *Verticillium albo-atrum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Chondrostereum purpureum* en kiwi.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis y parasitismo. Tiene un efecto estimulante del crecimiento.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene  $1 \times 10^9$  conidios/mL.

**Forma de aplicación:** aplicación foliar a dosis de 1,5 - 2 L/ha. Aplicar en brotación y poscosecha, mediante riego o aspersión al suelo (2 aplicaciones por ciclo de cultivo). Utilizar la dosis más baja en plantaciones sin síntomas y la más alta en plantaciones con síntomas. Tratamiento de plántulas a dosis de 5 mL/L de agua, sumergir las raíces completas durante dos minutos al momento del trasplante. Aplicaciones curativas: Inyección al suelo con 5 mL/L, con suficiente volumen de mezcla para cubrir el volumen de las raíces. Tratamiento del suelo con una dosis de 1,5L/ha, aplicar al suelo mediante riego o mediante “*drench*” en el pico de crecimiento radicular y en plena temporada (máximo 3 aplicaciones por temporada). Tratamiento de flores y precosecha a dosis de 2 L/ha (150 mL/100L de agua), realizar aplicación foliar con 50% de floración, frutos y en pre-cosecha (1 o 2 días antes de la cosecha). Use la dosis más baja con una solución de hasta 1000 L/ha y la dosis más alta con soluciones mayores. Se recomienda un máximo de 3 aplicaciones por temporada.

**Registro y comercialización del producto:** Chile (SAG 2587).

**Empresa fabricante:** Bio Insumos Nativa SPA. Parcela Antilhue, lote 4 B2, Maule, Talca, Chile. Martínez y Valdivieso, Chile (Chile, 2019).

### *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* y *Trichoderma longibrachiatum*

#### 3 TAC

**Principio activo:** *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma longibrachiatum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento, oídio, moho gris, moho blanco, mildiú, marchitez, pudrición de la raíz y manchas foliares causadas por *Fusarium* sp., *Pythium* sp., *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Sclerotinia*, *Erysiphe* sp., *Sclerotinia* sp., *Bremis* sp., *Phytophthora* sp., *Septoria* sp., *Cercospora* sp., *Leveillula taurica*, *Stemphylium versicarium*, *Cercospora asparagi* en lechuga, almacha, uva, kiwi, tomate, frambuesa, fresa, cereza, ciruela, manzana, pera, cebolla y arándano.

**Modo de acción:** competencia.

**Características del agente de control biológico:** fungicida biológico, formulado a partir de conidios de *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma longibrachiatum*.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $2,5 \times 10^3$  UFC/g.

**Forma de aplicación:** aplicación foliar en la dosis de 1 - 2 kg/ha, aplicar cada 20 días con un máximo de cuatro aplicaciones por temporada desde la floración hasta la cosecha. Solución de 1.000 - 1.500 L/ha. Utilizar la dosis más alta cuando las condiciones ambientales sean favorables para el desarrollo de la enfermedad. Aplicación al suelo en dosis de 1 - 2 kg/ha a intervalos de 20 días en cualquier época del año. Solución de 600 L/ha. Utilizar la dosis más alta cuando la presión de la enfermedad sea mayor. Para aplicación foliar en alcachofas, espárragos, ají y tomates: 350 g/100 L. Para papas y uvas 1000 g/100 L.

**Registro y comercialización del producto:** Chile (SAG 2602) y Perú (SENASA PBUA 030).

**Empresa fabricante:** Pinturas Renner S.A. Av. Las Américas 221 Cerrillos, Santiago, Chile. Avance Biotechnologies Chile S.A., Calle Nueva 5367, Conchalí, Santiago de Chile (Perú, 2019).

### 3 TAC-I/BETA

**Principio activo:** *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma longibrachiatum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** bacteriosis, moho gris, volcamiento, moho blanco, mildiú polvoriento, mildiú lanoso y manchas foliares causadas por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Pythium* sp., *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia minor*, *S. sclerotiorum*, *Erysiphe* sp., *Bremis* sp., *Septoria lactucae* y *Cercospora longissima* en cereza, nuez, uva, kiwi, manzana, pera, tomate, cebolla, frambuesa, arándano, fresa y lechuga.

**Modo de acción:** competencia por espacio y nutrientes. También tiene acción como estimulante del crecimiento.

**Formulación:** polvo mojable a una concentración de  $1 \times 10^8$  conidios/g.

**Forma de aplicación:** aplicación foliar: a dosis de 1-2 kg/ha cada 20 días con un máximo de cuatro aplicaciones por época de cultivo desde la floración hasta la cosecha. Solución de 1.000 - 1.500 L/ha. Utilizar la dosis más alta cuando las condiciones ambientales sean favorables al desarrollo de la enfermedad. Aplicación al suelo: 1-2 kg/ha periódicamente con intervalos de 20 días en cualquier época del año. Solución de 600 L/ha. Utilice la dosis más alta cuando la presión de la enfermedad sea mayor.

**Registro y comercialización del producto:** Chile (SAG 2795).

**Empresa fabricante:** Avance Biotechnologies, Chile S.A. Calle Nueva 5367, Conchalí, Santiago, Chile (Tac-I-Beta ..., 2017).

### 3 TAEX

**Principio activo:** *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma longibrachiatum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición del tallo causada por *Chondrostereum*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Heterobasidium*, *Alternaria alternata*, *Penicillium*, *Fusicocum*, *Fomitiporella*, *Gloephylium coriolus*, *Aspergillus* en manzana, pera, durazno, cereza, aceituna, kiwi, arándano, uva y pino.

**Modo de acción:** competencia.

**Formulación:** pasta que contiene  $25 \times 10^3$  UFC/g.

**Forma de aplicación:** tratamiento de troncos y cortes: aplicar inmediatamente después de la poda, pasar brocha hasta cubrir la zona de corte. Realice un máximo de dos aplicaciones por temporada.

**Registro y comercialización del producto:** Chile (SAG 2664) y Perú (SENASA PBUA 188).

**Empresa fabricante:** Pinturas Renner S.A. Av. Las Américas 221 Cerrillos, Santiago, Chile. Avance Biotechnologies Chile S.A., Calle Nueva 5367, Conchalí, Santiago de Chile (Chile, 2019; Perú, 2019).

### TRICHONATIVA HORTALIZAS

**Principio activo:** *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma longibrachiatum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento, moho blanco y moho gris causados por *Phytophthora capsici*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia* spp., *Botrytis cinerea* en pimiento morrón, ají, brócoli, col, coliflor, clavel, tomate, lechuga, leucadendron, proteas, remolacha y pino.

**Modo de acción:** competencia, antibiosis y parasitismo de hongos fitopatógenos.

**Formulación:** suspensión concentrada que contiene  $1 \times 10^9$  conidios/mL.

**Forma de aplicación:** pimiento y ají: 0,1 L/ha. Aplicar en la siembra, trasplante y 10 días después del trasplante a través del agua de riego o por aspersión al suelo con solución de 200 a 600 L/ha, según el tamaño de las plantas. Para Brassicas: 5 mL/L de agua. Aplicar cada 20 días, a través del agua de riego o asperjando el sustrato. Aplicación en la formación de la cabeza y corte de la cabeza en col, para semillas con solución de 200 a 600 L/ha, según el tamaño de las plantas. Para lechuga: 1 L/ha al momento del trasplante, aplicación por el agua

de riego. Para la pudrición gris aplicar vía foliar cada 15 días, con solución de 200 a 400 L/ha.

**Registro y comercialización del producto:** Chile (SAG 2859).

**Empresa fabricante:** Bio Insumos Nativa SPA. Parcela Antilhue, lote 4 B2, Maule, Talca, Chile (Chile, 2019).

### *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* y *Trichoderma koningii*

#### **FITOTRIPEN WP**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii* y *Trichoderma viride*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento, marchitez por *Phytophthora* y marchitez por *Fusarium* causada por *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp. y *Fusarium* spp. en crisantemo, aguacate, tomillo, romero, vainilla, estragón, orégano, café, maracuyá, tomate, ajo, pimienta y berenjena.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable formulado a partir de conidios de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma viride* a concentración de  $1 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Forma de aplicación:** aplicar al suelo una dosis de 50 g/cantero o foliar a una dosis de 1 g/L, cada 12 semanas dentro del programa de aplicación. Para el cultivo de arroz aplicar la dosis de 250 - 400 g/ha. Tratamiento de semillas: 250 - 500 g/t de semillas o 2 a 3 g/L para aplicar sobre semillas pregerminadas.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 4658).

**Empresa fabricante:** Natural Control S.A. - Kilómetro 3, vereda San Nicolás-La Ceja, Rionegro, Departamento de Antioquia - Colombia (Fitotripen..., 2019; Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

#### **TRIBIOL WP**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* y *Trichoderma koningii*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* en mate.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $5 \times 10^9$  conidios viables/g.

**Forma de aplicación:** la aplicación al suelo debe ser preventiva en semilleros y en las diferentes etapas de los cultivos, reduciendo la aparición de enfermedades causadas por hongos en la gran mayoría de cultivos.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 7614).

**Empresa fabricante:** Bioprotección S.A.S - Cenicafe La Granja, Chinchiná, Caldas, Colombia ((Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Tribiol ..., 2019).

***Trichoderma harzianum, Trichoderma viride, Trichoderma koningii y  
Trichoderma polysporum***

### **CUSTOM GP**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum, Trichoderma viride, Trichoderma koningii* y *Trichoderma polysporum*.

**Indicación de uso:** probiótico de suelo.

**Modo de acción:** promotor del crecimiento.

**Formulaciones:** tableta efervescente o líquido concentrado.

**Forma de aplicación:** tratamiento de semillas, raíces y aspersion foliar.

**Registro y comercialización del producto:** EE. UU.

**Empresa fabricante:** Custom Biologicals Inc. Deerfield Beach, Florida, EE. UU. (Custom, 2018).

### ***Trichoderma* spp. en mezclas con otros hongos**

### **SAFERSOIL WP**

**Principio activo:** *Trichoderma asperellum, Trichoderma atroviride, Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** volcamiento causado por *Rhizoctonia solani* y nematodos agalladores, *Meloidogyne* spp. en tomate y crisantemo.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $5 \times 10^8$  conidios/g de *Trichoderma asperellum, Trichoderma atroviride* y *Trichoderma harzianum* y  $5 \times 10^8$  conidios/g de *Paecilomyces lilacinus*.

**Forma de aplicación:** aplicar en cultivo de flores, frutales, tomates, bananos, papa y café en dosis de 1 g/L de agua o 20 g/canteros de 36 m<sup>2</sup> o 0,5-1 kg/ha mediante “drench” dirigido al suelo.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 9134).

**Empresa fabricante:** Safer Agrobiológicos S.A.S - Cra. 50c 10 Sur-185, Medellín, Antioquia, Colombia. (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018; Safersoil..., 2019).

## SHAKTI

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* y *Paecilomyces lilacinus*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** enfermedades de las raíces como marchitez, volcamiento, *Ganoderma* sp., pudrición de la raíz en la caña de azúcar, té, café, césped, tomate, pimiento, cebolla, ajo, col. *Paecilomyces lilacinus* controla los nematodos en la mayoría de los cultivos.

**Forma de aplicación:** tratamiento de semillas: 4 - 5 g/10 mL de agua/kg de semilla.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Nivshakti Bioenergy Pvt Ltd. India (Shakti..., 2019).

## TROMBO WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Saccharomyces cerevisiae*.

**Indicación de uso:** inóculo microbiano para acelerar el compostaje.

**Características del producto:** contiene cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y *Trichoderma harzianum* que aceleran los procesos de descomposición de la materia orgánica y regulan la actividad de los organismos patógenos.

**Formulación:** polvo mojable en la concentración de *Trichoderma harzianum*  $1 \times 10^8$  UFC/g y *Saccharomyces cerevisiae*  $1 \times 10^8$  UFC/g de producto.

**Forma de aplicación:** en residuos orgánicos de la cosecha: 2,5 - 5 g/L de agua. En compost: 120 g/t.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 6186).

**Empresa fabricante:** Bio-Crop Ltda. Carrera 24 n 21-31 Palmira, Departamento Valle, Colombia (Trombo ..., 2011; Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

## TROPIMEZCLA WP

**Principio activo:** *Trichoderma* spp., *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus* y *Saccharomyces cerevisiae*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** mancha por *Alternaria* (*Alternaria* spp.) cebolla.

**Modo de acción:** competencia por nutrientes, antibiosis y parasitismo.

**Formulación:** polvo mojable formulado a partir de conidios de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma* spp., *Saccharomyces cerevisiae* que contiene  $1 \times 10^8$  conidios viables/g.

**Forma de aplicación:** en semilleros y campo: 2-4 g/L. Cultivos establecidos: 1 kg/ha. Se puede mezclar con abono orgánico compostado.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 6113).

**Empresa fabricante:** Soluciones Microbianas del Trópico S.A.S - km 2 vía Palestina, Parque Industrial Las Delicias, Bodega 15. Chinchiná, Caldas, Colombia. INVESA- Envigado, Colombia. <https://www.invesa.com/agro/tropimezcla-wp/>. Consultado en: 28 fev. 2019 (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

### *Trichoderma* spp. en mezclas con bacterias

#### ANNAPURNA

**Ingrediente activo:** *Trichoderma* sp., *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*; bacterias solubilizadoras de fosfato; bacterias movilizadoras de potasio y *Pseudomonas*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo.

**Modo de acción:** promoción del crecimiento.

**Características del agente de control biológico:** es un fertilizante orgánico a base de fibra de coco, torta de neem, torta de ricino, torta de pongamia, vermicompostados y enriquecido con los diversos microorganismos.

**Formulación:** polvo mojable.

**Forma de aplicación:** 90 - 120 kg/ha.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** Multiplex Group of Companies, India (Annapurna, 2018).

#### ANOKA

**Principio activo:** *Trichoderma viride* y *Pseudomonas fluorescens*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** pudrición de la raíz (*Pythium* spp.), Pudrición del cuello (*Phytophthora*, *Rhizoctonia*), marchitez por *Fusarium* (*Fusarium* spp.) y enfermedades bacterianas.

**Modo de acción:** competencia por el espacio y nutrientes, parasitismo y promoción del crecimiento.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable con 10<sup>6</sup> UFC/g. Vida útil: 12 meses.

**Forma de aplicación:** aspersión: 5 g/L de agua. Tratamiento de semillas: 10 g/kg de semilla (añadir poca agua para hacer una pasta y mezclar con las semillas). Para tubérculos y plántulas: 500 g/50 L de agua y dejar en remojo durante 5 minutos.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** K N Bio Sciences Pvt. Ltd., India (Anoka ..., 2018).

## BIOTAMAX

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma koningii* y *Trichoderma polysporum*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* y *Paenibacillus polymyxa*.

**Indicación de uso:** inoculante y biofertilizante.

**Modo de acción:** los microorganismos producen hormonas vegetales que estimulan el crecimiento del sistema radical de la planta.

**Formulación:** tableta efervescente.

**Forma de aplicación:** tratamiento de semillas y suelo: 1 tableta/galón de agua

**Registro y comercialización del producto:** EE. UU.

**Empresa fabricante:** Custom Biologicals Inc. Deerfield Beach, Florida, EE. UU. (Custom, 2018).

## BIOTAGREEN

**Principio activo:** cuatro especies de *Trichoderma*, seis especies de bacterias y una especie de bacteria fijadora de nitrógeno.

**Uso:** probiótico para césped en campos de golf.

**Modo de acción:** solubilización de nutrientes.

**Formulación y vida útil:** tableta efervescente. Validez de tres años.

**Forma de aplicación:** directamente sobre el césped.

**Registro y comercialización del producto:** EE. UU.

**Empresa fabricante:** Custom Biologicals Inc. Los productos se fabrican y distribuyen en las instalaciones de Deerfield Beach, Florida, USA (Biotagreen ..., 2013).

## BIO EFFEKT

**Principio activo:** *Trichoderma viride*, *Trichoderma lignorum* y *Bacillus subtilis*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Sclerotium* spp., *Alternaria* spp., *Verticillium* spp. y *Phytophthora* spp.

**Modo de acción:** utilizado para la descomposición de residuos de cultivos y en el control de fitopatógenos. Tanto *Trichoderma lignorum* como *Trichoderma viride* actúan por competencia, parasitismo y antibiosis.

**Formulación y vida útil:** líquido con  $2 \times 10^9$  UFC/mL de microorganismos. Validez hasta 6 meses.

**Forma de aplicación:** cereales y legumbres (1,5 - 2,5 L/ha); maíz, girasol y colza (2,0 - 3,0 L/ha); remolacha azucarera (2,0 - 2,5 L/ha) y hortalizas (4,0 - 5,0 L/ha), una solución



de 300 L/ha para el tratamiento de residuos vegetales con incorporación al suelo o 400 L/ha para el tratamiento de residuos vegetales sin incorporación al suelo. Frutales y vides (4,0 - 5,0 L/ha) para el tratamiento por las hojas caídas en otoño a manera preventiva del desarrollo de enfermedades (solución de 400 - 600 L/ha).

**Registro y comercialización del producto:** Rusia.

**Empresa fabricante:** Biona (Биона). Oficina central en Belgorod: 308015, Federación de Rusia, Belgorod, ul. Chicherina, 3B. 308015, Российская Федерация, г. Белгород, ул. Чичерина, 3Б, Rusia (Bioeffekt ..., 2018).

## BIO VAM

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii* *Athrobacter glovirormis*, *Azobacter chroococcum*, *Azobobacter vinelandii*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas alcaligenes* y *Pseudomonas putida*.

**Modo de acción:** aumenta el vigor y la viabilidad de las plantas, estimula la resistencia de las plantas a enfermedades fúngicas e insectos dañinos. Aumenta la absorción de agua y el flujo de nutrientes minerales en las raíces.

**Formulación:** mínimo de  $1 \times 10^4$  células/mL.

**Forma de aplicación:** tratamiento de raíces.

**Registro y comercialización del producto:** EE. UU. y Canadá.

**Empresa fabricante:** T&J Enterprises. Thomas Giannou 2328 W. Providence Ave. Spokane, Washington 9905 EE. UU. (BIO VAM, 2018).

## BIOZERA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*.

**Efectos y Objetivos:** es un promotor del crecimiento en quinua, ajonjolí, amaranto, chí, maíz, frutales, hortalizas, sandía y frijol.

**Modo de acción:** promoción del crecimiento.

**Características del producto:** es un promotor del crecimiento de las raíces que segrega fitohormonas y favorece el desarrollo de las plantas.

**Formulación:** polvo mojable con  $1,5 \times 10^{10}$  UFC/g de *Trichoderma* y  $3 \times 10^7$  UFC/g de *Bacillus*.

**Forma de aplicación:** tratamiento de semillas: 200 g/3 kg de semillas de quinua, ajonjolí, amaranto y chí. Para maíz: 600 a 800 g/50 kg de semillas. Hortalizas: utilizar 10 L/200 L de agua mediante aplicación foliar, 15 a 30 días después del trasplante. En papa, utilizar 10 L/ha mediante aplicación foliar, 15 a 30 días después de la emergencia de las plantas.

**Registro y comercialización del producto:** Bolivia (SENASAG 3578).

**Empresa fabricante:** Fundación Proinpa. Av. Menezes, s/n km 04, Cochabamba, Bolivia. Biotop. Av. Menezes, s/n km 04, Cochabamba, Bolivia (Biozera..., 2018; Ortuño et al., 2011).

## BIOZERA - L

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*.

**Indicación de uso:** es un promotor del crecimiento en quinua, ajonjolí, amaranto, chíá, maíz, frutales, hortalizas, sandía y frijol.

**Modo de acción:** promoción del crecimiento.

**Características del producto:** es un promotor de crecimiento de las raíces, secreta fitohormonas que promueven el desarrollo de raíces y aumenta su volumen, mejora la absorción de nutrientes y agua.

**Formulación:** concentrado emulsionable que contiene *Trichoderma harzianum* a una concentración de  $1 \times 10^{10}$  UFC/g y *Bacillus subtilis* a una concentración de  $1,5 \times 10^{10}$  UFC/g.

**Forma de aplicación:** utilizar en el momento de la siembra, mediante aplicación en el surco de siembra. Dosis de 500 mL/ha para ajonjolí, chíá, maíz, frijol. Para frutales y hortalizas utilizar una dosis de 1 L/ha.

**Registro y comercialización del producto:** Bolivia (SENASAG 3516).

**Empresa fabricante:** Fundación Proinpa. Av. Menezes, s/n km 04, Cochabamba, Bolivia (Ortuño et al., 2011).

## COMPETE PLUS

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* y *Azotobacter chroococcum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo. Mejora la rizosfera y contribuye con el uso eficiente de minerales, degrada la materia orgánica, aumenta la tolerancia al estrés abiótico y contribuye con la fijación de nitrógeno.

**Modo de acción:** promotor del crecimiento.

**Formulación:** es una mezcla de *Bacillus amyloliquefaciens* ( $2 \times 10^6$  UFC/g); *Bacillus pumilus* ( $2 \times 10^6$  UFC/g); *Bacillus subtilis* ( $1 \times 10^6$  UFC/g); *Bacillus licheniformis* ( $1 \times 10^6$  UFC/g); *Azotobacter chroococcum* ( $2 \times 10^6$  UFC/g); *Trichoderma harzianum* ( $2 \times 10^6$  UFC/g) y sustancias fúlvicas/húmicas (14,75%).

**Forma de aplicación:** en suelo de invernaderos (2 kg/ha) y viveros (2 kg/ha). La recomendación es que el producto se diluya en 400 a 1000 litros de agua/hectárea y se

aplique dentro de las 4 a 6 horas posteriores a la mezcla. Se pueden aplicar diferentes dosis para la recuperación de campos con condiciones pobres.

**Registro y comercialización del producto:** Holanda, Bélgica, Dinamarca, Alemania, Italia, Islandia, España, Reino Unido y Noruega.

**Empresa fabricante:** Plant Health Cure B.V. - P.O. Box 103 5060 AC Oisterwijk. 013 - 7200 300. Países Bajos (Compete-plus ..., 2018).

### PHC BIOPAK-F

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Streptomyces griseoviridis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus azotofixans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymyxa* y *Bacillus subtilis*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo como *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium* y otros.

**Modo de acción:** los microorganismos seleccionados facilitan la absorción de nutrientes por la raíz, fijando el nitrógeno atmosférico y haciendo disponibles el P, K y Ca. *Trichoderma harzianum* actúa por competencia y parasitismo.

**Formulación:** está formulado con extracto soluble de algas marinas (*Ascophyllum nodosum*), ácido húmico, maltodextrina, extracto de levadura, inertes y organismos benéficos microencapsulados en las concentraciones de: *Streptomyces griseoviridis* -  $10^6$  UFC/g, *Bacillus pumilus* -  $6,5 \times 10^7$  UFC/g, *Bacillus azotofixans* -  $1,5 \times 10^7$  UFC/g, *Bacillus licheniformis* -  $6,5 \times 10^7$  UFC/g, *Bacillus megaterium* -  $6,5 \times 10^7$  UFC/g, *Bacillus polymyxa* -  $1,5 \times 10^7$  UFC/g, *Bacillus subtilis* -  $6,5 \times 10^7$  UFC/g.

**Forma de aplicación:** tratamiento de semillas, fertirrigación y aspersión.

**Registro y comercialización del producto:** Estados Unidos y México.

**Empresa fabricante:** Plant Health Care de México, S. de R.L. de C.V. Av. Ceylan, 959, Bodega, 26. Col. Industrial Vallejo. Ciudad de México, México 02300 (PHC, 2018).

### SHOCKER

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* CPQBA 040-11DRM09, *Bacillus amyloliquefaciens* CPQBA 040-11DRM01 y CPQBA 040-11DRM04

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Modo de acción:** antibiosis, antagonismo, parasitismo y competencia.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene *Trichoderma harzianum* ( $1 \times 10^7$  UFC/g) y *Bacillus amyloliquefaciens* ( $1 \times 10^7$  UFC/g). Validez de 180 días a temperatura ambiente.

**Forma de aplicación:** para *Rhizoctonia*: 90 - 250 g/100 kg de semillas. Para *Sclerotinia*: 300 - 600 g/ha.

**Registro y comercialización del producto:** Brasil (Mapa 33918).

**Empresa fabricante:** Agrivalle Brasil Indústria e Comércio de Produtos Agrícolas Ltda. Av. Tranquilo Giannini, 1090; 13329-000 Salto, SP, Brasil (Agrofit, 2003c).

## SUBTITRICO

**Principio activo:** *Trichoderma* y bacterias.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Botrytis*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, etc.

**Formulaciones disponibles:** líquido y polvo.

**Forma de aplicación:** se recomienda al menos tres aplicaciones de tipo preventiva (1- 2 L/ha) y correctiva (2-3 L/ha). Recomendado para hortalizas, frutales, legumbres y plantas ornamentales.

**Registro y comercialización del producto:** EE. UU. y México.

**Empresa fabricante:** Biotecnología Agroindustrial S.A. de C.V. Norte Doce 230 3a etapa Cd. Industrial. Morelia, Michoacán 58200, México (Subtitricho ..., 2019).

## TNC Tricorr

**Principio activo:** *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* y *Bacillus licheniformis*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Botrytis* *Pythium* y *Fusarium*.

**Modo de acción:** estimula la germinación de semillas. Induce resistencia, mejora el crecimiento y el rendimiento.

**Formulación:** polvo mojable que contiene  $1 \times 10^{11}$  UFC/kg de *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma reesei* y  $4 \times 10^{11}$  UFC/kg de *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* y *Bacillus licheniformis*.

**Forma de aplicación:** mezclar 1 g/5 L de sustrato; 10 g/50 L de fibra de coco y 200 g/m<sup>3</sup> de sustrato.

**Registro y comercialización del producto:** Reino Unido.

**Empresa fabricante:** The Nutrient Company. Reino Unido (Tricorr, 2018).

## TRICOBAL

**Ingrediente activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningiopsis*, *Bacillus*

*subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens*.

**Efectos y objetivos:** promotor del crecimiento de quinua, maíz, ajonjolí, frijol y hortalizas.

**Modo de acción:** promoción del crecimiento.

**Formulación:** polvo mojable que contiene *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningiopsis* ( $1 \times 10^{12}$  conidios/g) y *Bacillus subtilis* ( $4 \times 10^9$  UFC/g).

**Forma de aplicación:** tratamiento del suelo: 2 kg/ha. Tratamiento de semillas: hacer una pasta con agua en una proporción de 1: 1 y aplicar a las semillas.

**Registro y comercialización del producto:** Bolivia (SENASAG 2106).

**Empresa fabricante:** Fundación Proinpa. Av. Menezes, S/N, Km 04, Cochabamba, Bolivia (Ortuño et al., 2011; Tricobal ..., 2019).

## TRICOBAL L

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningiopsis* y *Bacillus subtilis*.

**Efectos y objetivos:** promotor del crecimiento en soja y maíz.

**Modo de acción:** promoción del crecimiento.

**Formulación:** emulsión que contiene *Trichoderma harzianum* ( $1,2 \times 10^9$  UFC/mL), *Trichoderma koningiopsis* ( $1,2 \times 10^9$  UFC/mL) y *Bacillus subtilis* ( $1,5 \times 10^{10}$  UFC/mL).

**Forma de aplicación:** para cultivo de soja: 200 mL/100 kg de semillas. Para el cultivo de maíz: 100 mL/20 kg de semillas.

**Registro y comercialización del producto:** Bolivia (SENASAG 3621).

**Empresa fabricante:** Fundación Proinpa. Av. Menezes, S/N, Km 04, Cochabamba, Bolivia (Ortuño et al., 2011; Tricobal ..., 2019).

## TRICONOVA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningiopsis* y *Bacillus subtilis*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinerea*.

**Modo de acción:** antibiosis, antagonismo, parasitismo y competencia.

**Formulación:** concentrado soluble que contiene *Trichoderma harzianum* ( $4 \times 10^{12}$  conidios viables/g), *Trichoderma koningiopsis* ( $1 \times 10^{12}$  conidios/g) y *Bacillus subtilis* ( $4 \times 10^8$  UFC/g).

**Forma de aplicación:** para cultivos de quinua y cebolla: 0,5 a 0,75 L/ha. Para aguacate y cítricos: 0,5 L/ha. El momento y la frecuencia de la aplicación dependen de la severidad de la enfermedad. Por tratarse de un producto biológico, debe usarse forma preventiva.

**Registro y comercialización de producto:** Perú (SENASA PBUA O307).

**Empresa fabricante:** Novagri S.A.C. Arequipa, Perú (Perú, 2019).

### **Trichoderma spp. en mezcla con otros hongos y bacterias**

#### **BIOFIT RUT**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Penicillium billai*, *Paecilomyces lilacinus* y *Azospirillum brasilense*.

**Modo de acción:** solubilización de fosfatos y fijador de nitrógeno.

**Características del agente de control biológico:** inoculante biológico.

**Formulación:** polvo mojable que contiene esporas de *Bacillus subtilis* ( $1,25 \times 10^5$  UFC/g), *Penicillium billai* y *Paecilomyces lilacinus* ( $1,25 \times 10^7$  UFC/g), *Trichoderma harzianum* ( $1,35 \times 10^5$  UFC/g) y *Azospirillum brasilense* ( $1,25 \times 10^5$  UFC/g).

**Forma de aplicación:** aplicar a través del sistema de riego cada dos semanas, a partir desde el trasplante hasta la floración o formación de frutos. Dosis de 2 a 4 kg/ha.

**Registro y comercialización del producto:** Colombia (ICA 11161), México y EE. UU.

**Empresa fabricante:** Soluciones Microbianas del Trópico. km 2 vía Palestina, Parque Industrial Las Delicias, Bodega 15, Chinchiná, Caldas, Colombia. Innovak Global. <http://www.innovakglobal.com/productos/agrobiologicos/biofit-rtu/>. Chihuahua, México (Instituto Colombiano Agropecuario, 2018).

#### **MICOSAT F**

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* TH01, *Pochonia chlamydosporia* PC 50, *Agrobacterium radiobacter* AR 39, *Bacillus subtilis* BA 41 y *Streptomyces* spp. SB 14.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo, mejora el desarrollo de las raíces y es inductor de resistencia.

**Modo de acción:** desarrollo de raíces y aumento de las defensas naturales de la planta, menor susceptibilidad a patógenos.

**Formulaciones disponibles:** gránulos, polvo mojable y polvo a una concentración de  $12,4 \times 10^7$  UFC/g.

**Forma de aplicación:** tratamiento de semillas, aspersión foliar y distribución en el suelo.

**Registro y comercialización del producto:** Italia y Holanda.

**Empresa fabricante:** C.C.S. AOSTA Quart (AO). Frazione Olleyes 9, 11020, Italia (Micosat..., 2018).

## OREGONISM XL

**Ingrediente activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Glomus aggregatum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Pisolithus tinctorius*, *Scleroderma cepa*, *Scleroderma citrinum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus azotoformans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Paenibacillus durum*, *Paenibacillus polymyxa*, *Pseudomonas aureofaciens* y *Pseudomonas fluorescens*.

**Modo de acción:** mejora la absorción de nutrientes, estimula el sistema radical e incrementa la resistencia de la planta al estrés.

**Forma de aplicación:** se puede aplicar en el tratamiento de plántulas y esquejes, en el sustrato de siembra y a través del riego.

**Registro y comercialización del producto:** EE. UU.

**Compañías productoras:** Aurora Innovations. PO Box 22041, Eugene, OR 97402, EE. UU. (Oregonism..., 2019).

### *Trichoderma* spp. en mezcla con micorrizas y bacterias

## AYUSH

**Principio activo:** *Trichoderma viride*, *Pseudomonas fluorescens* y micorrizas.

**Enfermedades y patógenos que controla:** sigatoka, mal de Panamá, nematodos en el cultivo de plátano, pudrición de cormos, pudrición de raíz, pudrición del tallo y roya.

**Modo de acción:** promotor del crecimiento de las plantas.

**Forma de aplicación:** siembra: 1 kg/100 kg de vermicompost y añadir 19 kg de compost de neem; mezclar y mantener a la sombra durante una semana, luego aplicar en el área de la raíz de los cormos. Para aplicar en la zona de la raíz (vía “drench”): 1 kg/200 L de agua y agregar 500 g de neem, 5 kg de compost de maní, 1 kg de azúcar morena, 3 L de orina de vaca, 5 kg de estiércol de vaca. Mantenga la mezcla durante 24 horas, mezclando de 3 a 4 veces.

**Registro y comercialización del producto:** India.

**Empresa fabricante:** K. N. Bio Sciences. India. <http://www.knbiosciences.com/ayush-a-griculture>. Consultado el 03/08/2019.

## BACTIVA

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, *Gliocladium virens*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas fluorescens* y *Ascophyllum nodosum*.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos del suelo, como *Pythium*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Verticillium* en cultivos de algodón, cereales, caña de azúcar, hortalizas y en viveros de especies forestales.

**Modo de acción:** *Trichoderma* spp. actúa por competencia en la rizosfera, parasitismo y antibiosis. Las bacterias estimulan el crecimiento del sistema radical mediante la producción de hormonas y la solubilización del fosfato.

**Formulación y vida útil:** polvo mojable que contiene 1% de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride* y *Gliocladium virens*, en una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/g; 2% de *Bacillus polymyxa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* y *Pseudomonas fluorescens*, a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/g; 10% de *Ascophyllum nodosum*; 20% de ácido fúlvico y 67% de caolín. La vida útil es de 18 meses.

**Forma de aplicación:** por aspersión a través del sistema de riego.

**Registro y comercialización del producto:** Centro y Norteamérica y Europa.

**Empresa fabricante:** Tecnologías Naturales Internacional S.A. Av. Tecnológico 709, Col. CD industrial. 38010 Celaya, Gto. México (Bactiva ..., 2018).

## BIOCULT MYCORRHIZA WS

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices*, *Glomus etunicatum* y *Scutellospora dipurpurescens*.

**Uso recomendado:** bioestimulante para árboles, vid, hortalizas, caña de azúcar y flores.

**Modo de acción:** promoción del crecimiento, competencia por el espacio y nutrientes, parasitismo de patógenos e inducción de resistencia.

**Formulación y vida útil:** polvo para preparación de una pasta en agua (WS) que contiene  $10^8$  UFC/g. El producto puede ser almacenado a temperatura ambiente hasta seis meses y durante un año entre 5 y  $10^\circ\text{C}$ .

**Forma de aplicación:** mezclar 200 g/10 L de agua. Aplicar mediante riego. Aplicación en campo: 200 g/ha. Tratamiento de semillas: 200 g/ha.

**Registro y comercialización del producto:** Zambia, Malawi, Namibia y Zimbabue.

**Empresa fabricante:** Biocult, NuLandis. Zambia (Biocult..., 2018).

## BIOPLANTGUARD

**Principio activo:** *Trichoderma* spp., micorrizas, bacterias y productos fermentados.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Fusarium*, *Verticillium*, *Sclerotinia*, *Botrytis*, *Pythium* y *Rhizoctonia*.

**Modo de acción:** inductor de resistencia a patógenos y promotor de crecimiento.

**Características del agente de control biológico:** contiene una mezcla de micelio de



hongos beneficiosos para los cultivos, a base de varias especies, entre ellas *Trichoderma* spp. y enzimas con actividad estimulante, como quitinasa, glucanasa y xilanasa.

**Formulación:** la matriz orgánica contiene un 3% de materia vegetal simple sin compostar. A este material se le añaden conidios y micelio de *Trichoderma* a una concentración de  $10^7$  UFC/mL; 1 g/L de enzimas; 0,5% de bacterias de la rizosfera; 0,5 - 1% de micorrizas; 1 L de agua y glicerol como conservante.

**Forma de aplicación:** se recomienda para el tratamiento de semillas, plantas y frutos. El producto se puede utilizar para asperjar la parte aérea, sumergiendo plántulas o semillas para siembra o trasplante, mezclado con agua de riego, mezclado con el suelo y sustratos para semilleros y viveros. El producto es compatible con la mayoría de los sistemas de aplicación de tratamientos fitosanitarios o de fertilización.

**Registro y comercialización del producto:** Italia.

**Empresa fabricante:** S.A.I.P.A.N. srl - via L. Angelloni, 3, 84013 Cava de Tirreni (Sa), Italia (Bioplantguard ..., 2018).

## CONDOR

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride*, *Glomus* spp. y bacterias de la rizosfera.

**Enfermedades y patógenos que controla:** *Alternaria*, *Armillaria*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pyrenochaeta*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Xanthomonas*, etc.

**Modo de acción:** inducción de resistencia a fitopatógenos.

**Características del agente de control biológico:** el producto tiene una composición de hongos micorrízicos y *Trichoderma atroviride*. El aislado de *Trichoderma* coloniza la rizosfera de las plantas, lo que favorece la protección contra patógenos.

**Formulación:** polvo mojable que contiene *Trichoderma atroviride*  $1 \times 10^9$  conidios/g; *Glomus* spp. 10 esporas/g; bacterias de la rizosfera  $1 \times 10^7$  UFC/g y 7% de una matriz orgánica.

**Forma de aplicación:** se recomienda para horticultura, frutales y árboles. Es aconsejable realizar los tratamientos con antelación y repetir de 30 a 15 días (desde presiembra o pretrasplante) y con la aparición de los primeros síntomas.

**Registro y comercialización del producto:** Reino Unido.

**Empresa fabricante:** Italtollina S.p.a. Località Casalmenini, 10, 37010, Rivoli Veronese (VR) Italtollina USA, Inc., 1800 Purdue Pkwy., Anderson, IN 46016 (Condor, 2018).

## GREAT WHITE PREMIUM MYCORRHIZE

**Principio activo:** *Trichoderma koningii*, *Trichoderma harzianum*, hongos micorrízicos y bacterias.

**Indicación de uso:** como promotor de crecimiento.

**Modo de acción:** promueve el crecimiento de plantas y raíces.

**Formulaciones disponibles y vida útil:** contiene los siguientes hongos endomicorrízicos: *Glomus aggregatum*, *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus etunicatum*, *Glomus clarum*, *Glomus monosporum*, *Paraglomus brazilianum*, *Glomus deserticola*, *Gigaspora margarita* y los siguientes ectomicorrízicos: *Pisolithus tinctorious*, *Rhizopogon luteolus*, *Rhizopogon fulvigleba*, *Rhizopogon villosullus*, *Rhizopogon amylopogon*, *Scleroderma citrinum* y *Scleroderma* sp. También contiene las siguientes bacterias: *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus azotoformans*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Paenibacillus durum*, *Paenibacillus polymyxa*, *Pseudomonas aureofaciens* y *Pseudomonas fluorescens* a una concentración de  $5,25 \times 10^5$  UFC. Contiene *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma koningii* ( $1,87 \times 10^5$  UFC/g) y *Trichoderma harzianum* ( $1,25 \times 10^5$  UFC/g).

**Forma de aplicación:** tratamientos de semillas, esquejes, en sistemas hidropónicos y en macetas.

**Registro y comercialización del producto:** Reino Unido.

**Empresa fabricante:** Plant Success. Reino Unido (Plant Success ..., 2018).

## MICOSAT F TAB PLUS WP

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum* TH01, *Trichoderma viride* TV03, *Bacillus subtilis* BA41, *Streptomyces* sp. SB19, *Glomus coronatum* GU53, *Glomus caledonium* GM24, *Glomus mosseae* GP11, *Glomus viscosum* GC 41 y *Rhizophagus irregularis* RI31.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo, nematodos fitopatógenos e insectos.

**Modo de acción:** inducción de resistencia a bacterias, hongos fitopatógenos habitantes del suelo, insectos y nematodos.

**Formulaciones disponibles:** granulado y polvo mojable.

**Forma de aplicación:** aplicado de forma preventiva. Tratamiento de semillas, aspersión foliar y distribución en el suelo y fertirrigación. Dosis de 2 kg/ha.

**Registro y comercialización del producto:** Italia y Holanda.

**Empresa fabricante:** C.C.S. AOSTA Quart (AO). Frazione Olleyes 9, 11020, Italia (Micosat..., 2017).

## MICOVER GOLD y MICOVER PLUS

**Principio activo:** *Trichoderma harzianum*, *Glomus* spp. y *Pseudomonas* spp.

**Enfermedades y patógenos que controla:** patógenos habitantes del suelo (*Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia solani*, *Phoma*, *Sclerotinia*, *Verticillium*, *Armillaria mellea*) en tomate, berenjena, calabacín, papas, melón y otras cucurbitáceas, cebolla, ajo, apio, guisantes, albahaca y otras hierbas, flores, césped, trigo, cebada, maíz, árboles frutales y ornamentales.

**Modo de acción:** actúa mediante colonización de la rizosfera y como promotor del desarrollo de la raíz favoreciendo el aumento de la absorción de nutrientes e induce resistencia a estreses bióticos y abióticos.

**Formulaciones disponibles:** Micover Gold: microgránulos que contienen *Trichoderma harzianum* 5,0 x 10<sup>7</sup> UFC/g, *Glomus* spp. 1,4 propágulos/g, *Pseudomonas* spp. 1,0 x 10<sup>8</sup> UFC/g. Micover Plus: formulado como un polvo mojable que contiene *Glomus* spp. 16,0 propágulos/g, *Trichoderma harzianum* 2,6 x 10<sup>7</sup> UFC/g y *Pseudomonas* spp. 1,0 x 10<sup>8</sup>.

**Forma de aplicación:** Micover Gold debe aplicarse durante la siembra, trasplante o incorporado al suelo. Micover Plus se puede aplicar durante la siembra, trasplante o distribuido como solución acuosa para aspersión, con una barra de aspersión, sobre el sustrato de la plántula o maceta.

**Registro y comercialización del producto:** Italia.

**Empresa fabricante:** Agrifutur, Italia (Agrifutur, 2019).

## NUTRI-LIFE PLATFORM

**Principio activo:** *Trichoderma* spp., *Glomus intraradices*, *Glomus etunicatum*, *Glomus aggregado*, *Glomus mosseae*, *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Streptomyces cellulosa*.

**Indicación de uso:** como promotor de crecimiento, para la solubilización de nutrientes y fijación de nitrógeno.

**Características del producto:** se requiere agitación constante durante la aplicación. No utilice filtros ni boquillas finas.

**Formulación:** polvo mojable que contiene *Trichoderma* a una concentración de 2 x 10<sup>9</sup> UFC/g.

**Forma de aplicación:** tratamiento de semillas: 1 - 1,6 kg/tonelada de semilla. Tratamiento de plántulas: 400 g/100 L de agua para sumergir las plántulas. Viveros: sumerja las plántulas en la suspensión. Aplicar también en macetas antes de colocar las plántulas. Recomendación de 1 kg/m<sup>3</sup> de suelo. Recomendado para plantas ornamentales, frutales, hortalizas, legumbres, cereales y otros cultivos.

**Registro y comercialización del producto:** Australia y Sudáfrica. Australian Certified Organic (ACO) Registered Farm Input 456AI.

**Empresa fabricante:** Nutri-Tech Solutions P/L (NTS) 7 Harvest Road. Yandina. Queensland 4561, Australia (Nutri-Life..., 2017a).

### TEAM Horto

**Principio activo:** *Trichoderma atroviride* MUCL45632, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices* y bacterias.

**Indicación de uso:** mejora el desarrollo de las plantas e incrementa la producción, la calidad del fruto y la resistencia de los cultivos a las variaciones climáticas.

**Formulación:** tableta que contiene  $4,5 \times 10^5$  UFC; 54 propágulos/tableta de *Glomus mosseae*; 54 propágulos de *Glomus intraradices*/tableta con un total de  $10^8$  propágulos/tableta y bacterias de la rizosfera  $4,5 \times 10^5$  UFC/tableta. Contenido de nutrientes:  $N_{\text{total}} = 13\%$ ;  $P_2O_5 = 8\%$ ;  $K_2O = 4,5\%$ .

**Forma de aplicación:** coloque la tableta lo más cerca de la raíz.

**Registro y comercialización del producto:** Italia.

**Empresa fabricante:** Itapollina. Italia (Team., 2019).

### TIFI

Principio activo: *Trichoderma atroviride* MUCL45632, *Glomus* spp. y bacterias.

Enfermedades y patógenos que controla: *Armillaria*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Phytophthora* y *Botrytis*.

Modo de acción: competencia, parasitismo y promoción del crecimiento.

Formulación: polvo mojable que contiene *Trichoderma atroviride* MUCL45632 a una concentración de  $2 \times 10^8$  UFC/g, *Glomus* spp.  $10$  propágulos/g y bacterias de la rizosfera a una concentración de  $0,01\%$ .

Forma de aplicación: aplicación por contacto con la raíz, semillas, plántulas y hortalizas **a nivel de campo o en cultivos protegidos**, árboles ornamentales y césped.

Registro y comercialización del producto: Francia.

Empresa fabricante: Itapollina France. Les Espaces de Sophia, 80, route des Lucioles, 06560 Valbonne, Francia (Tifi, 2018).

### TNC MICORR (MAX E HIDRO)

Principio activo: *Trichoderma* spp., micorrizas y bacterias benéficas.

Modo de acción: **actúa como promotor de crecimiento e inductor de resistencia.**

**Formulación:** *Trichoderma* spp. (*Trichoderma hamatum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei* -  $1,3 \times 10^8$  UFC/kg), hongos endomicorrízicos (*Glomus clarum*, *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus deserticola*, *Glomus monosporus*, *Glomus brasilianum*, *Glomus aggregatum*,

*Gigaspora margarita* -  $1,2 \times 10^4$  UFC/kg), hongos ectomicorrízicos (*Rhizopogon amylopogon*, *Rhizopogon fulvigleba*, *Rhizopogon rubescans*, *Rhizopogon villosuli*, *Laccaria laccata*, *Pisolithus tinctorius*, *Scleroderma* spp. -  $5 \times 10^7$  esporas/kg y bacterias benéficas (*Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis* -  $1,2 \times 10^9$  UFC/kg y *Bacillus brevis*, *Bacillus cirulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus firmus*, *Bacillus halodenitrificans*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus polymyxa* -  $7 \times 10^8$  UFC/kg).

**Forma de aplicación:** en el trasplante de plántulas, tratamiento de esquejes y semillas y en el caso de plantas a raíz desnuda, aplicar directamente a las raíces en el surco de siembra.

**Registro y comercialización del producto:** Reino Unido.

**Empresa fabricante:** The Nutrient Company, Reino Unido (Tnc-micorr ..., 2018a, 2018b).

## Referencias

- AGRIANCE. **Fungicide.** c2014. Disponible en: <<http://www.agriance.com/products/crop-protection/fungicide/>>. Acceso el: 23 set. 2018.
- AGRIFUTUR: coltiva la vita. Alfianello, It: Agrifutur, [2019]. Disponible en: <<http://www.agrifutur.com/>>. Acceso el: 25 feb. 2019.
- AGRODERMA: we solve innovating. Morelos: Grindag, 2018. Disponible en: <<https://grindag.com/en/product/agroderma-mexico-2/>>. Acceso el: 23 sept. 2018.
- AGROFIT: consulta abierta. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponible en: <[http://agrofit.agri.cultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agri.cultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acceso el: 3 mar. 2019.
- ANKOOR: Trichoderma viride biofungicide, [2019]. Disponible en: <<http://www.tendersips.com/products>>. Acceso el: 8 mar. 2019.
- ANNAPURNA: enriched organic manure for all crops. Bangalore: Multiplex Group, [2018]. Disponible en: <<https://www.multiplexgroup.com/product-details.php?id=120>>. Acceso el: 17 dic. 2018.
- ANOKA: Consortium of Tricho & Pseudomonas. Hyderabad: KN Biosciences, [2018]. Disponible en: <<http://www.knbiosciences.com/anoka-consortium-of-tricho-pseudomonas-agriculture>>. Acceso el: 17 dic. 2018.
- ARGENTINA. Ministerio de Producción y Trabajo. **Formulários web.** Buenos Aires, 2019a. Disponible en: <<https://www.argentina.gob.ar/files/formuladoswebene2019xls>>. Acceso el: 5 mar. 2019.
- ARGENTINA. Ministerio de Producción y Trabajo. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. **Registro nacional de terapéutica vegetal.** Buenos Aires, [2019b]. Disponible en: <<https://www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/productos-veterinarios-fitosanitarios-y-fertilizantes/registro-nacional-de-terapeutica-vegetal>>. Acceso el: 5 mar. 2019.
- ARORA, N.; MEHNAZ, S.; BALESTRINI, R. **Bioformulations:** for sustainable agriculture. New Delhi: Springer, 2016. 299 p.
- ASPERELLO T34 BIOCONTROL. Westerlo: Biobest, [2019]. Disponible en: <[www.biobestgroup.com/fr/biobest/produits/lutte-biologique-contre-les-maladies-14869/biofungicides-14875/asperello-t34-biocontrol-16840/](http://www.biobestgroup.com/fr/biobest/produits/lutte-biologique-contre-les-maladies-14869/biofungicides-14875/asperello-t34-biocontrol-16840/)>. Acceso el 3 mar. 2019.
- ASTHA TV (*Trichoderma viride*). Kolkata: Lila Agrotech, [2019]. Disponible en: <<http://www.lilaagrotech.com/product/astha-tv-trichoderma-viride/>>. Acceso el: 1 mar. 2019.
- BACTIVA. **Celaya:** Tecnologías naturales Internacional, [2018]. Disponible en: <<http://www.bactiva.com/vistas/bactiva.php>>. Acceso el: 17 dic. 2018.
- BERTSCH, C.; RAMÍREZ-SUERO, M.; MAGNIN-ROBERT, M.; LARIGNON, P.; CHONG, J.; ABOU-MANSOUR, E.; SPAGNOLO, A.; CLÉMENT, C.; FONTAINE, F. Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. **Plant Pathology**, v. 62, n. 2, p. 243-265, 2013.

- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; CORRÊA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrol de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 88).
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JUNIOR, T. J.; CORREA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. Bioprotectores comerciais para o controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 17, p. 111-147, 2009.
- BHOOMIKA 1% WP. Hyderabad: Varsha Bioscience and Technology, [2019]. Disponible en: <<http://www.varshabioscience.com/products/biofertilizer-manufacturer.html>>. Acceso el: 8 mar. 2018
- BINAB. Santiago: Agroconexions, [2018]. Disponible en: <[https://www.agroconexion.cl/sites/default/files/Ficha 20técnica 20Binab-T 20WP 20y 20Pellet 20Gr\\_0.pdf](https://www.agroconexion.cl/sites/default/files/Ficha%20técnica%20Binab-T%20WP%20Pellet%20Gr_0.pdf)>. Acceso el: 15 sept. 2018.
- BIO PLUS-TRICHO (*Trichoderma viride*). Trivandrum: Deepa Farm Inputs private, [2019]. Disponible en: <<https://www.indiamart.com/proddetail/bio-plus-tricho-trichoderma-viride-10740594848.html>>. Acceso el: 8 mar. 2019.
- BIO PROTECTOR: *Trichoderma viride*. Chennai: Mani Dharma Biotech, [2018]. Disponible en: <<http://www.manidharmabiotech.com/bio-control-agents.html#trichoderma-viride>>. Acceso el: 5 dic. 2018.
- BIO VAM. Spokane: T&J Enterprises, [2018]. Disponible en: <<https://tandjenterprises.com/biovam-one-quart-label.htm>>. Acceso el: 5 nov. 2018.
- BIO-CURE. Coimbatore: T. Stanes & Company, [2019]. Disponible en: <<http://www.tstanes.com/products-bio-cure-f.html>>. Acceso el: 3 feb. 2019.
- BIO-IMPLO: a brownish watery liquid with an earthy smell. Somerset Mall: Agroorganics, [2019]. Disponible en: <<http://www.agroorganics.co.za/bio-implo/>>. Acceso el: 1 mar. 2019.
- BIO-TRICHO. Cape Town: Agro-organics, [2018]. Disponible en: <<http://www.agro-organics.co.za/bio-tricho/>>. Acceso el: 17 dic. 2018.
- BIOBEN: fungicida biológico. Ciudad de México: Altiaira, [2018]. Disponible en: <<https://altiaira.mx/producto/bioben/>>. Acceso el: 8 sept. 2018.
- BIOCULT: Mycorrhiza WS. Somerset West: Biocult, [2018]. Disponible en: <[https://nulandis.com/sites/default/files/downloads/Biocult 20Mycorrhiza 20WS 20- 20Damara 20- 20Zambia.pdf](https://nulandis.com/sites/default/files/downloads/Biocult%20Mycorrhiza%20WS%20-20Damara%20-20Zambia.pdf)>. Acceso el: 8 sept. 2018.
- BODERMA. Antioquia: Ideas Biológicas, 2017. Disponible en: <<https://www.ideasbiologicas.com/images/pdf/ficha-tecnica-bioderma-controlador-plagas-cultivos.pdf>>. Acceso el: 2 mar. 2019.
- BIOEFFEKT. Belgorod: Biona, [2018]. Disponible en: <<http://bionagroup.ru/pochvennyy/pochvennyy-fungitsid-effekt-bio/>>. Acceso el: 5 nov. 2018.
- BIOFLOWER *Trichoderma*. Muchamiel: Planeta Huerto, c2019. Disponible en: <<https://www.planetahuerto.pt/venda-bioflower-trichoderma-01294>>. Acceso el: 24 sept. 2018.
- BIOFUNGO. Villavicencio: Orius Biotech, 2017. Disponible en: <<http://www.oriusbiotech.com/documentos/48-biofungo-wp-ficha-tecnica.pdf>>. Acceso el: 29 sept. 2018.
- BIOHARZ: *Trichoderma harzianum*, Effective Control of Seed & Soil Borne Diseases. Gurugram: International Panaacea, [2018]. Disponible en: <<https://www.ipbiologicals.com/trichoderma-harzianum/>>. Acceso el: 17 sept. 2018.
- BIOHIT. Indore: Indore Biotech Inputs and Research, [2019]. Disponible en: <<http://indorebiotech.com/biofungicide-biohit.php>>. Acceso el: 8 mar. 2019.
- BIOPLANTGUARD: prodotto destinato al trattamento di semi, piante, vivai, impianti in pieno campo e sotto serra. Cava de Tirreni: Saipan, [2018]. Disponible en: <[http://www.saipansrl.it/wp-content/uploads/2014/07/bioplantguard\\_tecnica.pdf](http://www.saipansrl.it/wp-content/uploads/2014/07/bioplantguard_tecnica.pdf)>. Acceso el: 17 sept. 2018.
- BIOPONIC MIX BM. Ávila: Eurogrow, [2019]. Disponible en: <<https://eurogrow.es/ghc-general-hydroponics/664-mezcla-de-microorganismos-ghc-bioponic-25g.html>>. Acceso el: 9 mar. 2019.
- BIOSHIELD. New Delhi: Ambika Biotech, [2019]. Disponible en: <<http://www.esuppliersindia.com/ambika-biotech/bio-shield-trichoderma-viride-pr2302817-sfp-sw-f.html>>. Acceso el: 8 mar. 2019.
- BIOSPARK *Trichoderma*. Laguna: Biospark, [2019]. Disponible en: <<http://www.biosparkph.com/annual-product-revenue-goal>>. Acceso el: 6 mar. 2019.

BIOTAGREEN: probiotic for golf courses. Deerfield Beach: Custom Biologicals, 2013. Disponible en: <<http://living-soils.com/biota-green-probiotic-for-golf-greens/>>. Acceso el: 25 feb. 2019.

BIOTAM: biorational fungicide. Morrisville: Isagro, [2018]. Disponible en: <<http://www.isagro-usa.com/bio-tam.html>>. Acceso el: sept. 2018.

BIOTECH INTERNATIONAL. Biofungicides. Disponible en: <<https://www.biotech-int.com/biofungicides.html>>. Acceso el: 7 feb. 2018.

BIOTEN: Agrofarmaco biológico per la prevenzione delle malattie fungine del terreno che attaccano i tappeti erbosi. Treviso: ICL, 2015.

Disponible en: <[https://landscaperpro.it/wp-content/uploads/2016/05/2015-TU-Bioten\\_16.pdf](https://landscaperpro.it/wp-content/uploads/2016/05/2015-TU-Bioten_16.pdf)>. Acceso: 17 set. 2018.

BIOTRICO-H: *Trichoderma harzianum*: fungicida biológico, polvo humectante. El Rancito: Sagana Agrobiológicos, [2018]. Disponible en: <<http://saganaagrobiologicos.com/productos/>>. Acceso el: 17 sept. 2018.

BIOZERA: promotor de crecimiento, biofertilizante y biofungicida. Cochabamba: Biotop, [2018]. Disponible en: <<http://www.biotopboli-via.org/bt/index.php/en/biozera>>. Acceso el: 17 dic. 2018.

BISSETT, J.; GAMNS, W.; JAKLITSCH, W.; SAMUELS, G. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA Fungus*, v. 6, p. 263-295, 2015.

BLINDER: ficha técnica. Medellín: Mycos International, 2016. Disponible en: <[http://www.químicosoma.com/archivos/FT\\_BLIN- DER\\_SC.pdf](http://www.químicosoma.com/archivos/FT_BLIN- DER_SC.pdf)>. Acceso el: 25 feb. 2019.

BOLÍVIA. Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras. Serviço Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidade Alimentaria. **El gran Paitití**. [c2011]. Disponible en: <<http://190.129.48.189/egp/productosAgroquimicos.html>>. Acceso el: 15 nov. 2018.

CHILE. Ministerio de Agricultura. Servicio Agrícola y Ganadero. **Lista de plaguicidas con autorización vigente**. Santiago, 2019. Disponible en: <[www.sag.gob.cl/content/lista-de-plaguicidas-autorizados-0](http://www.sag.gob.cl/content/lista-de-plaguicidas-autorizados-0)>. Acceso el: 27 feb. 2019.

CHINABIOWORKS: *Trichoderma harzianum*: biological fungicide. Beijing: CowayBio, [2018]. Disponible en: <[http://www.china-bioworks.com/en/index.php?optionid=994&auto\\_id=109](http://www.china-bioworks.com/en/index.php?optionid=994&auto_id=109)>. Acceso el: 22 nov. 2018.

COIMBATORE: *Trichoderma viride* antagonistic fungus. Ooty: GreenMax Agrotech, [2018]. Disponible en: <<http://www.greenmaxagrotech.com/trichoderma-viride.html>>. Acceso el: 3 dic. 2018.

COMMANDER: biofungicide (*Trichoderma harzianum*) 1.0 WP. India: H. T. C. Impex Private, [2019]. Disponible en: <<https://www.indiamart.com/proddetail/biofungicide-2562795488.html>>. Acceso el: 8 mar. 2019.

COMPETE-PLUS: rhizosphere inoculant. Oisterwijk: Plant Health Cure, 2018. Disponible en: <[https://phc.eu/en/products/amflerating/file/download/file\\_id/97](https://phc.eu/en/products/amflerating/file/download/file_id/97)>. Acceso el: 20 sept. 2018.

CONDOR: micronized powder - *Trichoderma atroviride*. Rivoli Veronese: Italpollina, [2018]. Disponible en: <<https://italpollina.com/INT/products/beneficial-microbials/condor-88.html>>. Acceso el: 20 set. 2018.

CONTEGO TR: plant protection & Nutrition, 2013. Disponible en: <[http://www.biosolutions.co.nz/uploads/2/1/4/8/21483126/contego-trlabela5\\_print.pdf](http://www.biosolutions.co.nz/uploads/2/1/4/8/21483126/contego-trlabela5_print.pdf)>. Acceso el: 26 oct. 2018.

CUSTOM. Deerfield Beach: Custom Biologicals, [2018]. Disponible en: <<http://living-soils.com/>>. Acceso el: 15 dic. 2018.

ECO-77: aerial biofungicide. KwaZulu-Natal: Plant Health products, [2018]. Disponible en: <<https://plant-health.co.za/eco-77-t-77/>>. Acceso el: 17 dic. 2018.

ECO-T: biofungicide and biostimulant. KwaZulu-Natal: Plant Health products, [2018]. Disponible en: <<http://plant-health.co.za/eco-t/>>. Acceso el: 22 nov. 2018.

ECODERMA: *Trichoderma viride*. Bangalore, Margo, [2019]. Disponible en: <<http://www.pjmargo.com/?product=ecoderma>>. Acceso el: 8 mar. 2019.

ECOGOLD TRICHA. Mumbai: Metro Exporters PVT, [2019]. Disponible en: <[http://www.metroexporters.com/images/pdf/Metro\\_Ex-porters\\_Ecogold.pdf](http://www.metroexporters.com/images/pdf/Metro_Ex-porters_Ecogold.pdf)>. Acceso el: 8 mar. 2019.

ECOHOPE: agricultural chemicals. Tokyo: Kumiai, [2019]. Disponible en: <<https://www.kumiai-chem.co.jp/english/products/index.html>>. Acceso el: 16 feb. 2019.

ECOSOM TH. Hyderabad: Agrilife, [2019]. Disponible en: <<https://www.kisanestore.com/agrilife-ecosom-th-1kg>>. Acceso el: 7 mar. 2019. EMERALD: biofertilizer. Chennai: Emrad Bio, [2019]. Disponible en: <<http://www.emrad-bio.com/en/products/>>. Acceso el: 8 mar. 2019.

ENPRO-DERMA: biopesticida. Nashik: Enpro Bio Sciences, [2018]. Disponible en: <<https://www.indiamart.com/proddetail/enpro-derma-trichoderma-vinide-bio-control-agent-1242362797.html>>. Acceso el: 3 dic. 2018.

ESQUIVE WP. Beaucoûzé: Agrauxine, [2018]. Disponible en: <<https://www.agrauxine.com/en/biocontrol/esquive-wp/>>. Acceso el: 21 sept. 2018.

EXCALIBUR: micro encapsulated inoculant. Van Wert: Advanced Biological Marketing, [2018]. Disponible en: <<http://www.abm1st.com/wp-content/uploads/bsk-pdf-manager/2018/01/Excalibur-Gold-PB-4x7-Pouch-Label.pdf>>. Acceso el: 21 set. 2018.

FERTIMAX (Trichoderma vinide/Trichoderma harzianum). Gujarat: Skymax Crop Science, [2019]. Disponible en: <[https://in900682858\\_fm.alibaba.com/product/118836625-103193357/FERTIMAX.html](https://in900682858_fm.alibaba.com/product/118836625-103193357/FERTIMAX.html)>. Acceso el: 8 mar. 2019.

FITOTRIPEN: agente microbial antagonista de fitopatógenos: polvo mojable. La Ceja: Natural Control, [2019]. Disponible en: <<https://naturalcontrol.com.co/wp-content/uploads/2015/10/ficha-tecnica-fitotripen.pdf>>. Acceso el: 28 feb. 2019.

FRACETO, I. F.; MARUYAMA, C. R.; GUILGER, M.; MISHRA, S.; KESWANI, C.; SINGH, H. B.; LIMA, R. *Trichoderma harzianum*-based novel formulations: potential applications for management of next-gen agricultural challenges. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 93, p. 2056-2063, 2018.

FRAGATA: fungicida biológico: polvo mojable. Chihuahua: Química Agronomica de Mexico, 2016. Disponible en: <<http://www.qam.com.mx/site2/index.php/product/fragata/>>. Acceso el: set. 2018.

FUNGISTOP [Belgorod: Biona, 2018]. Disponible en: <<http://bionagroup.ru/plants/biofun/biologicheskij-fungitsid-fungistop/>>. Acceso el 7 dic. 2018.

GLOCLADIN SK. Moscow: Agrobiotecnología LLC, [2018a]. Disponible en: <<http://bioprotection.ru/new/preparations/gliocladin-sk-5-1.html>>. Acceso el: 21 oct. 2018.

GLOCLADIN SP. Moscow: Agrobiotecnología LLC, [2018b]. Disponible en: <<http://bioprotection.ru/new/preparations/gliocladin-sp-60-g.html>>. Acceso el: 21 oct. 2018.

GLOCLADIN TAB. Moscow: Agrobiotecnología LLC, [2018c]. Disponible en: <<http://bioprotection.ru/new/preparations/gliocladin-tab-100-tab.html>>. Acceso el: 21 oct. 2018.

GROW-BOOST. Halstead: Fragonfi, [2019]. Disponible en: <<https://www.harrodhorticultural.com/grow-boost-organic-plant-strengtheners-pid8451.html#product-tabs>>. Acceso el: 6 mar. 2019.

HARZINA GOLD. West bengal: Super Agro, [2019]. Disponible en: <<https://www.indiamart.com/proddetail/harzina-gold-1987558073.html>>. Acceso el: 8 mar. 2019.

HARZTOP. Los Canteros: Biogram, 2014. Disponible en: <<http://www.chemiesa.com/wp-content/uploads/2015/04/Ficha-Tecnica-Harz-top.pdf>>. Acceso el: 25 feb. 2019.

HASIRU FRESH. Chikmagalore: Hasiru Organics, [2019a]. Disponible en: <<http://hasiruorganics.com/hasiru-fresh-trichoderma-harzianum-2/>>. Acceso el: 3 mar. 2019.

HASIRU LIQUID. Chikmagalore: Hasiru Organics, [2019b]. Disponible en: <<http://hasiruorganics.com/hasiru-liquid-trichoderma/>>. Acceso el: 1 mar. 2019.

ICB NUTRISOLO TRICHODERMA. Porto Alegre: ICB Bioagritec, [2019]. Disponible en: <<http://www.icb.bio.br/icb-nutrisolo-trichoderma/>>. Acceso el: 9 mar. 2019.

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. **Productos registrados bioinsumos**: diciembre 30 de 2018. Disponible en: <<https://www.wica.gov.co/getdoc/2ad9e987-8f69-4358-b8a9-e6ee6dccc8132/productos-bioinsumos-mayo-13-de-2008.aspx>>. Acceso el: 1 mar. 2019.

KIWIVAX: reduces ps-a-v symptoms in kiwifruit vines by increasing resistance to disease. Lincoln: Agrimm, 2017. Disponible en: <<http://agrimm.co.nz/wp-content/uploads/Kiwivax-Label-1kg-with-registration-1.pdf>>. Acceso el: 15 feb. 2019.

KRISHIBIO NIDAN. Indore: Krishi Bio Products and Research, [2018]. Disponible en: <[http://krishibio.com/?page\\_id=352](http://krishibio.com/?page_id=352)>. Acceso el: 7 dic. 2018.

LABRADOR: trichoderma harzianum 1.40% PH. Torreón: Agroquímicos Versa, [2018]. Disponible en: <[https://www.terralia.com/agroqui-micos\\_de\\_mexico/view\\_trademark?trademark\\_id=10616](https://www.terralia.com/agroqui-micos_de_mexico/view_trademark?trademark_id=10616)>. Acceso el: sept. 2018.



LETTUCEMATE WP: rootzone drench. Lincoln: Agrimm, 2016c. Disponible en: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Lettuce-mate-Label-200g.pdf>>. Acceso el: 15 feb. 2019.

MAZAO SUSTAIN. Thika: Real IPM, [2019]. Disponible en: <<https://realipm.com/products/real-trichoderma-bio-fertiliser/>>. Acceso el: 2 mar. 2019.

MICOSAT F-TAB PLUS WP. Quart: CCS Aosta, 2017. Disponible en: <[http://www.micosat.it/wp-content/uploads/2016/12/21\\_SC\\_TC\\_MICOSAT-F-TAB-PLUS-WP-CONV\\_10-11-14.pdf](http://www.micosat.it/wp-content/uploads/2016/12/21_SC_TC_MICOSAT-F-TAB-PLUS-WP-CONV_10-11-14.pdf)>. Acceso el: 22 sept. 2018.

MICOSAT F. Quart: CCS Aosta, [2018]. Disponible en: <[http://www.micosat.it/wp-content/uploads/2016/12/21\\_SC\\_TC\\_MICOSAT-F-TAB-PLUS-WP-CONV\\_10-11-14.pdf](http://www.micosat.it/wp-content/uploads/2016/12/21_SC_TC_MICOSAT-F-TAB-PLUS-WP-CONV_10-11-14.pdf)>. Acceso el: 22 sept. 2018.

MONITOR WATER SOLUBLE. Baroda: Agriland Biotech, 2016. Disponible en: <<http://www.agrilandbiotech.in/products/biological-fungicides/1>>. Acceso el: 7 dic. 2018.

NAGAYAMA, K.; WATANABE, S.; KUMAKURA, K.; ICHIKAWA, T.; MAKINO, T. Development and commercialization of *Trichoderma asperellum* SKT-1 (Ecohope®), a microbial pesticide. **Journal of Pesticide Science**, v. 32, n. 2, p. 141-142, 2007.

NATUCONTROL: fungicida biológico. Las Fuentes: Biokrone, [2019]. Disponible en: <<http://www.biokrone.com/natucontrol.php>>. Acceso el: 25 feb. 2019.

NICODERMA: *Trichoderma viride* 1% w.p. Dakor: Nico Orgo manures, 2015. Disponible en: <<http://www.neemnico.com/product/nicoderma-trichodermaviride-1-w-p/>>. Acceso el: 8 mar. 2019.

NISARGA: *Trichoderma viride* 1% w.p. Bangalore: Multiplex Group, [2019]. Disponible en: <<http://www.multiplexgroup.com/product/nisarga/>>. Acceso el: 1 mar. 2019.

NUTRI-LIFE PLATFORM. Yandina: Nutri-Tech Solutions, 2017a. Disponible en: <<http://www.nutri-tech.com.au/factsheets/platform.pdf>>. Acceso el: 26 oct. 2018.

NUTRI-LIFE TRICHO\_SHIELDTM. Yandina: Nutri-Tech Solutions, 2017b. Disponible en: <<http://www.nutri-tech.com.au/factsheets/tricho-shield.pdf>>. Acceso el: 26 oct. 2018.

OREGONISM XL. Eugene: Aurora Innovations, [2019]. Disponible en: <<http://aurorainnovations.com/oregonism-xl.html>>. Acceso el: 7 mar. 2019.

ORGAMICA F. Kazan: Bionovatic, [2018]. Disponible en: <<http://www.bionovatic.ru/products/biofungitsidy/organica-f/>>. Acceso el: 21 oct. 2018.

ORGANIT STERN. Kazan: Bionovatic, [2018]. Disponible en: <<http://www.bionovatic.ru/products/produkty-vosstanovleniya-pochvy/organit-stern/>>. Acceso el: 21 oct. 2018.

ORTUÑO, N.; NAVIA, O.; MENECEZ, E.; BARJA, D.; VILLCA, S.; PLATA, G.; CLAROS, M.; GUTIÉRREZ, C.; ARANDIA, W.; CRÉSPOL. **Catálogo de bioinsumos**. Quillacollo: Fundación Proinpa, [2011]. Disponible en: <<https://www.proinpa.org/tic/pdf/Bioinsumos/Varios20Bioinsumos/Catalogo20de20bioinsumos.pdf>>. Acceso el: 25 feb. 2019.

PARAGUAI. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Servicio Nacional de Calidad y Sanidad vegetal. **Prod\_Agro. Asuncion**, [2019]. Disponible en: <[http://secure.senave.gov.py:8443/registros/servlet/prod\\_agro](http://secure.senave.gov.py:8443/registros/servlet/prod_agro)>. Acceso el: 2 mar. 2019.

PAULITZ, T. C.; BÉLANGER, R. R. Biological control in greenhouse systems. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, p. 103-133, 2001.

PEAK TRICO-H: *Trichoderma harzianum* (Líquid biofungicida). West Bengal: Peak Group, [2019b]. Disponible en: <[http://peakgroupindia.com/products/trico\\_h.html](http://peakgroupindia.com/products/trico_h.html)>. Acceso el: 8 de mar. 2019.

PEAK TRICO: *Trichoderma viride* (líquid bio-fungicida). West Bengal: Peak Group, [2019a]. Disponible en: <<http://peakgroupindia.com/products/trico.html>>. Acceso el: 8 de mar. 2019.

PERU. Ministerio de Agricultura. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. **Consultas del registro de plaguicidas**. Lima, [2019]. Disponible en: <[https://servicios.senasa.gob.pe/SIGIAWeb/signa\\_consulta\\_producto.html](https://servicios.senasa.gob.pe/SIGIAWeb/signa_consulta_producto.html)>. Acceso el: 5 mar. 2019.

PHC. Ciudad de México: Plant Health Care de México, [2018]. Disponible en: <<http://www.phcmexico.com.mx/phcbiopesticidas.html>>. Acceso el: 25 sept. 2018.

PLANT HELPER. Fresno: AmPac Biotech, [2018]. Disponible en: <<http://www.ampacbiotech.net/>>. Acceso el: 22 sept. 2018.

PLANT SUCCESS. Reino Unido: Plant Success, [2018]. Disponible en: <[https://www.plant-success.com/wp-content/uploads/Plant\\_Success-s-How\\_To\\_Use.pdf](https://www.plant-success.com/wp-content/uploads/Plant_Success-s-How_To_Use.pdf)>. Acceso el: 22 sept. 2018.

PLANT-BOOST: *Trichoderma harzianum*. Halstead: Dragonflí, 2019. Disponible en: <<https://www.dragonflí.co.uk/products/plant-boost-trichoderma-harzianum>>. Acceso el: 6 mar. 2019.

PLANTMATE FOLIAR PLANTZONE BUSTER WP. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponible en: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Plantmate-Foliar-500g-11494.pdf>>. Acceso el: 15 feb. 2019.

PLANTMATE GRANULAR: rootzone starter granule. Lincoln: Agrimm, 2014. Disponible en: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Plantmate-Granular-25kg.pdf>>. Acceso el: 15 feb. 2019.

POABS green power guard. Tiruvalla: Poabs Biotech, [2019]. Disponible en: <<http://poabsbiotech.com/soilguard.html>>. Acceso el 08 mar. 2019.

PRABHA DERMA: *Trichoderma viride* 1.0% WP. Karnal: Prabhat, [2019]. Disponible en: <<http://www.prabhataagri.com/product/2018-05-04-12-28-49/prabha-derma>>. Acceso el: 1 mar. 2019.

PRESTOP: biological fungicide. [Español: Verdera, 2007.] Disponible en: <[http://verdera.fi/index.php/download\\_file/313/](http://verdera.fi/index.php/download_file/313/)>. Acceso el: 8 mar. 2019.

PRQRECTOR: agente microbiano para control de enfermedades: polvo mojable de uso agrícola. Palmira: Bio\_Crop, 2011. Disponible en: <[http://biocrop.com/wp-content/uploads/2016/06/PROTECTOR-Ficha\\_Tecnica-BIO-CROP.pdf](http://biocrop.com/wp-content/uploads/2016/06/PROTECTOR-Ficha_Tecnica-BIO-CROP.pdf)>. Acceso el: 25 feb. 2019.

RADIX: agrofármaco biológico contra i fungi del terreno. Saronno: Certis, [2012]. Disponible en: <[https://www.certiseurope.it/uploads/media/RADIX\\_2012.pdf](https://www.certiseurope.it/uploads/media/RADIX_2012.pdf)>. Acceso el: 22 sept. 2018.

REMEDIER: eco-friendly solution against soil-borne diseases Milan: Isagro, 2017. Disponible en: <<https://www.isagro.com/static/upload/31-/31-remedier.pdf>>. Acceso el: 23 sept. 2018.

RIZODERMA: líquido (AL): bio-controlador fúngico. Buenos Aires: Microbiología Agrícola, 2016. Disponible en: <[https://www.rizobacter.com/sites/default/files/2018-10/38004-rizoderma-trigo-y-soja-marbete\\_0.pdf](https://www.rizobacter.com/sites/default/files/2018-10/38004-rizoderma-trigo-y-soja-marbete_0.pdf)>. Acceso el 15 nov. 2018.

ROOT GUARDIAN. Lawrenceburg: Garden Alive, 2019. Disponible en: <[www.gardensalive.com](http://www.gardensalive.com)>. Acceso el: 9 mar. 2019.

ROOTGARD SP. Nairobi: Juanco SPS, 2019. Disponible en: <<http://shambaza.com/listing/rootgard-sp.html>>. Nulandis: <https://nulandis.com/product/biocult-rootguard>. Acceso el: 26 feb. 2019.

ROOTSHIELD AG. Victor, NY: Bioworks, [2018a]. Disponible en: <<http://www.bioworksinc.com/products/rootshield-ag.php>>. Acceso em: 25 sept. 2018.

ROOTSHIELD GRANULES. Victor, NY: Bioworks, [2018b]. Disponible en: <<http://www.bioworksinc.com/products/rootshield-granules.php>>. Acceso el: 25 sept. 2018.

ROOTSHIELD WP. Victor, NY: Bioworks, [2018c]. Disponible en: <<http://www.bioworksinc.com/products/rootshield-wp.php>>. Acceso el: 25 sept. 2018.

ROOTSHIELD-PLUS GRANULES. Victor, NY: Bioworks, [2018a]. Disponible en: <<http://www.bioworksinc.com/products/rootshield-plus-granules.php>>. Acceso el: 25 sept. 2018.

ROOTSHIELD-PLUS WP. Victor, NY: Bioworks, [2018b]. Disponible en: <<http://www.bioworksinc.com/products/rootshield-plus-granules.php>>. Acceso el: 25 sept. 2018.

SAFERSOIL WP. Medellín: Safer Agrobiológicos, [2019]. Disponible en: <<http://safer.com.co/wp-content/uploads/2017/05/ET-Saferoil-WP.pdf>>. Acceso el: 28 feb. 2019.

SANJEEVNI: *Trichoderma viride*. Gurugram: International Panaacea, [2018]. Disponible en: <<https://www.iplbiologicals.com/trichoderma-viride-2/#>>>. Acceso el: 5 dic. 2018.

SARDAR ECO GREEN. Vadodara: Gujrat State Fertilizers & Chemicals, [2018]. Disponible en: <[https://www.gsfclimited.com/sardar\\_eco\\_green.asp?muid=3](https://www.gsfclimited.com/sardar_eco_green.asp?muid=3)>. Acceso el 25 de sept. 2018.

SENTINEL BIO-FUNGICIDE: natural *Botrytis* biofungicide WP. Lincoln: Agrimm, 1997. Disponible en: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Sentinel-200g.pdf>>. Acceso el: 15 feb. 2019.

SHAKTI AG. Kolkata: Nivshakti Bioenergy Pvt, 2019. Disponible en: <<http://www.shaktibiotech.in/shakti-ag/>>. Acceso el: 8 mar. 2019.

SOILGARD MICROBIAL FUNGICIDE. Guilford Road: Certis USA, [2019]. Disponible en: <[http://certisusa.com/pest\\_management\\_products/biofungicides/soilgard\\_12g\\_microbial\\_fungicide.htm](http://certisusa.com/pest_management_products/biofungicides/soilgard_12g_microbial_fungicide.htm)>. Acceso el: 5 mar. 2019.

STERNIFAG: *Trichoderma harzianum* VKM F-4099D. Moscow: Agrobiotechnology LLC, [2018]. Disponible en: <<http://bioprotection.ru/new/preparations/sternifag-sp-400-g.html>>. Acceso el: 17 oct. 2018.

SUBITRICHICO: bacteria y hongo fungicida. Morelia: Biotecnología Agroindustrial, [2019]. Disponible en: <<http://www.btagroindustrial.com/subitrichico.html>>. Acceso el: 25 feb. 2019.

T-22-HC: root disease control: biological fungicide. Victor, NY: Bioworks, [2018]. Disponible en: <<http://www.bioworksinc.com/products/ag/t-22.php>>. Acceso el: 25 sept. 2018.

T34 BIOCONTROL. Madrid: biocontrol Technologies, [2019]. Disponible en: <[http://biocontroltech.com/wp-content/uploads/2018/10/t34\\_IBMA\\_pdf.pdf](http://biocontroltech.com/wp-content/uploads/2018/10/t34_IBMA_pdf.pdf)>. Acceso el: 15 feb. 2019.

T34 BIOCONTROL. Santarém: IQV Agro Portugal, [2017]. Disponible en: <[http://iqvagro.pt/itech/T34\\_20BIOCONTROL.pdf](http://iqvagro.pt/itech/T34_20BIOCONTROL.pdf)>. Acceso el: 15 feb. 2019.

TAC-I-BETA: bactericida/fungicida biológico polvo mojable (WP). Santiago: Avance Biotechnologies, [2017]. Disponible en: <[https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/3\\_tac\\_i\\_beta\\_02-01-2018.pdf](https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/3_tac_i_beta_02-01-2018.pdf)>. Acceso el: 1 mar. 2019.

TEAM HORTO. Rivoli Veronese: Itapollina, [2019]. Disponible en: <<https://italpollina.com/FR/produits/micro-organismes/team-micor-riza-plus-193.html>>. Acceso el: 12 mar. 2019.

TENET BIO-FUNGICIDADE GRANULE. Lincoln: Agrimm, 2013. Disponible en: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Tenet-Label.pdf>>. Acceso el: 14 feb. 2019.

TENET-WP. Morrisville: Isagro, 2018. Disponible en: <<http://www.isagro-usa.com/assets/tenet-wp-label.pdf>>. Acceso el: 5 mar. 2019.

TIFI. RIVOLI VERONESE: Itapollina, [2018]. Disponible en: <<https://italpollina.com/FR/produits/micro-organismes/tifi-175.html>>. Acceso el: 23 sept. 2018.

TIFI-POLVO: fungicida biológico polvo mojable (WP). Tarragona: Agrotecnologies Naturales, [2018]. Disponible en: <[http://www.sag.gob.cl/sites/default/files/resol\\_mod\\_uso\\_tifi\\_polvo\\_bioquimica\\_de\\_productos\\_naturales\\_ltda\\_-\\_anexo\\_etiqueta.pdf](http://www.sag.gob.cl/sites/default/files/resol_mod_uso_tifi_polvo_bioquimica_de_productos_naturales_ltda_-_anexo_etiqueta.pdf)>. Acceso el: 15 feb. 2019.

TNC-MICORR HYDRO. ROCHDALE: The Nutrient Company, [2018a]. Disponible en: <<https://www.thenutrientcompany.com/product/tnc-mycorrhizo/>>. Acceso el: 23 sept. 2018.

TNC-MICORR MAX. Rochdale: The Nutrient Company, [2018b]. Disponible en: <<https://www.thenutrientcompany.com/product/tnc-mycorrmx/>>. Acceso el: 23 sept. 2018.

TRI-CURE WP: biological fungicide. Delmas: MBFi, [2016]. Disponible en: <<http://www.mbfico.za/productfiles/downloads/Tri-Cure-WP/MSDS-For-Bio-chem-Tri-Cure-WP.pdf>>. Acceso el: 23 sept. 2018.

TRIANUM. The Netherlands: Koppert B. V., [2018]. Disponible en: <<https://www.koppert.com/products/products-pests-diseases/trianum-g/>>. Acceso el: 23 sept. 2018.

TRIBIOL WP. La Granja Chinchina, Bioprotección, [2019]. Disponible en: <<https://agroactivocol.com/producto/trichoderma-tribiol/>>. Acceso el: 26 feb. 2019.

TRICAT: *Trichoderma harzianum* controlador biológico. Lima: Agroindustrial Limsa, [2017]. Disponible en: <<http://www.limsa.pe/Productos-Agrícolas/TRICAT-Trichoderma-harzianum>>. Acceso el: 26 feb. 2019.

TRICH-A-SOIL. Turrella: Organic Crop Protectants Pty, [2012]. Disponible en: <[http://ocp.com.au/wpcontent/uploads/2014/07/OCP114\\_Trich+A+Soil+label\\_Back\\_FA.pdf](http://ocp.com.au/wpcontent/uploads/2014/07/OCP114_Trich+A+Soil+label_Back_FA.pdf)>. Acceso el: 08 mar. 2019.

TRICHO-GUARD. Pune: Ajay Bio-Tech, [2019]. Disponible en: <[http://www.ajaybio.in/Ajaysite/product\\_biopesticides.html](http://www.ajaybio.in/Ajaysite/product_biopesticides.html)>. Acceso el: 1 mar. 2019.

TRICHO-SHIELD COMBAT. Pune: Kan Biosys, [2018]. Disponible en: <<http://kanbiosys.com/pest-and-disease-management>>. Acceso el: 7 dic. 2018.

TRICHOBIO: biofungicida y promotor de enraizamiento. Santa Cruz, Bolivia: Biosae, [2018]. Disponible en: <<https://biosae.com.bo/productos/Trichoderma#lg=1&slide=0>>. Acceso el: 24 sept. 2018.

TRICHOD WP. Villavicencio: Orius Biotech, [2017]. Disponible en: <[http://www.oriusbiotech.com/documentos/Tricho-d-ficha\\_tecnica.pdf](http://www.oriusbiotech.com/documentos/Tricho-d-ficha_tecnica.pdf)>. Acceso el: sept. 2018.

TRICHODERMA BIO-FUNGICIDE. Gondia: Ruchi, [2018]. Disponible en: <<http://www.ruchibiochem.com/trichoderma-viride-fungici-de.htm>>. Acceso el: 7 dic. 2018.

TRICHODERMA-PASTA: fungicida biológico. Colina: ITAS, [2014]. Disponible en: <<http://itas.cl/wp/wp-content/uploads/2014/06/Trichoderma-Pasta-final.pdf>>. Acceso el: 26 feb. 2019.

TRICHODERMA-SUSPENSION: fungicida natural. Colina: ITAS, [2014]. Disponible en: <<http://itas.cl/wp/wp-content/uploads/2014/06/Trichoderma-Suspension-final.pdf>>. Acceso el: 26 feb. 2019.

TRICHODRY NURSERY. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponible en: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Trichodry-Nursery-25kg-label.pdf>>. Acceso el: 15 feb. 2019.

TRICHOFLOW NURSERY. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponible en: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Trichoflow-Nursery-500g-portrait.pdf>>. Acceso el: 15 feb. 2019.

TRICHOGEL GL. Chinchina: Soluciones Microbianas del Tropicó, [2019]. Disponible en: <<https://www.coursehero.com/file/31855642/FICHA-T%C3%89CNICA-TRICHOGEL-GLpdf/>>. Acceso el: 1 mar. 2019.

TRICHOGOLD BIOPESTICIDE. Vijayawada: Agrigold Organics, [2019]. Disponible en: <<https://www.indiamart.com/proddetail/tricho-gold-biopesticides-2214326097.html>>. Acceso el: 8 mar. 2019.

TRICHOHAR WP: fungicida agrícola. Lima: Grupo Andina, [2019]. Disponible en: <<http://www.grupoandina.com.pe/en/productos/trichohar/>>. Acceso el: 2 mar. 2019.

TRICHOINPRO WP. Villavicencio: Inproarroz, 2019. Disponible en: <<http://www.inproarroz.com/seccion.php?s=portafolio&idcat=1>>. Acceso el: 22 feb. 2019.

TRICHOLIFE: Trichoderma viride. Baroda: Gujarat Life Sciences, 2018. Acceso el: 2 mar. 2019. Disponible en: <<http://www.glsbiotech.com/productdetails.aspx?id=12&rfhg=2>>. Acceso el: 25 sept. 2018.

TRICHOMAX. Trujillo: Solagro, [2018]. Disponible en: <<https://solagro.com.pe/wp-content/uploads/2018/04/1.-FT-TRICHOMAX-SE- NASA.pdf>>. Acceso el: 6 mar. 2019.

TRICHOPEL NURSERY FIELD. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponible en: <<http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Agrimm-Tricho-pel-Nursery-Field-2kg.pdf>>. Acceso el: 15 feb. 2019.

TRICHOPLUS JCO. Barreiras: JCO fertilizantes, [2019]. Disponible en: <<http://jcofertilizantes.com.br/produtos/trichoplus/>>. Acceso el: 9 mar. 2019.

TRICHOPLUS. Durban: BASF South Africa, [2018]. Disponible en: <<https://www.agro.basf.co.za/af/Produkte/Overview/TrichoPlus%-%C2AE.html>>. África do Sul>. Acceso el: 15 dic. 2018.

TRICHOR: fungicida microbial. Chilchota: Bióloga Agriculture For Health, [2019]. Disponible en: <<http://www.biologa.mx/bio/tri-chor/>>. Acceso el: 4 mar. 2019.

TRICHORICH. Trichoderma viride 1,00% wp. Hyderabad: Prathibha Biotech, [2019]. Disponible en: <<http://prathibhabitech.com/bio-fungicides/>>. Acceso el: 9 mar. 2019.

TRICHOSIL: hongo fungicida. Lima: Silvestre Protección Vegetal, [2014]. Disponible en: <[http://www.silvestre.com.pe/site/images/Fichas\\_Tecnicas/FT\\_TRICHOSIL\\_50\\_WP\\_06.pdf](http://www.silvestre.com.pe/site/images/Fichas_Tecnicas/FT_TRICHOSIL_50_WP_06.pdf)>. Acceso el: 26 dic. 2019.

TRICHOSOIL. Montevideo: Lage y Cía, [2018]. Disponible en: <<http://www.lageycia.com/pt/producto.php/32>>. Acceso el: 15 nov. 2018.

TRICHOSTAR. Kolkata: Super Agro Pvt, [2019]. Disponible en: <<https://www.indiamart.com/proddetail/trichostar-1987557497.html>>. Acceso el: 8 mar. 2019.

TRICHOSYM. Commune de Mejjat: Éléphant Vert Maroc, [2018]. Disponible en: [http://www.agrimaroc.ma/wp-content/uploads/Fiches\\_techiques\\_ELEPHANT\\_VERT.pdf](http://www.agrimaroc.ma/wp-content/uploads/Fiches_techiques_ELEPHANT_VERT.pdf). Acceso el: 26 oct. 2018.

TRICHOTEC WP. Naivasha: Dudutech, [2019]. Disponible en: [http://www.dudutech.com/wp-content/uploads/sites/2/2014/04/WE-B\\_2016-TRICHOTECH\\_A4-Product-flyer-General.pdf](http://www.dudutech.com/wp-content/uploads/sites/2/2014/04/WE-B_2016-TRICHOTECH_A4-Product-flyer-General.pdf)>. Acceso el: 21 feb. 2019.

TRICHOTROPICO WP. Chinchiná: Soluciones Microbianas del Trópico, [2013]. Disponible en: [http://smdeltropico.com/fichas-tecnicas/FICHA\\_TECNICA\\_TRICHOTROPICO.pdf](http://smdeltropico.com/fichas-tecnicas/FICHA_TECNICA_TRICHOTROPICO.pdf)>. Acceso el: 1 mar. 2019.

TRICOBAL: promotor de crecimiento, biofertilizante y biofungicida. Cochabamba: Biotop, [2019]. Disponible en: <http://www.biotopbo-livia.org/bt/index.php/en/biofungicida>>. Acceso el: 26 feb. 2019.

TRICODAMP. Santa Cruz, Bolivia: Probiotec, [2019]. Acceso el: 2 mar. 2019. Disponible en: <http://www.probiotec.org/index.php/tricodamp>>. Acceso el: 9 mar. 2019.

TRICONE V. Coimbatore: Neuscire Biolab, [2019]. Disponible en: <https://www.indiamart.com/prakriti-biotechthiruvananthapuram/plant-growth-promoters.html>>. Acceso el: 8 mar. 2019.

TRICORR. Rochdale: The Nutrient Company, [2018]. Disponible en: <https://www.thenutrientcompany.com/product/tnc-tricorrrp5/>>. Acceso el: 23 set. 2018.

TRICOTOP: biofungicida y promotor de crecimiento. Cochabamba: Biotop, 2012. Disponible en: [https://www.proinpa.org/tic/pdf/Bioinsumos/Biofungicida/Tricotop\\_volante.pdf](https://www.proinpa.org/tic/pdf/Bioinsumos/Biofungicida/Tricotop_volante.pdf)>. Acceso el: 25 feb. 2019.

TRICOX. Ventura: JH Biotech, 2011. Disponible en: [http://www.silvestre.com.pe/site/images/Hojas\\_de\\_Seguridad/TRICOX-HS\\_JH\\_BIOTECH.pdf](http://www.silvestre.com.pe/site/images/Hojas_de_Seguridad/TRICOX-HS_JH_BIOTECH.pdf)>. Acceso el: 1 mar. 2019.

TRIECO: Trichoderma viride: bio-fungicide. Mumbai: Ecosense, [2019]. Disponible en: <http://www.eecosense.com/about.html>>. India. Acceso el: 1 mar. 2019.

TRIFESOL. Ibagué: Biocultivos, [2019]. Disponible en: <https://www.biocultivos.com.co/producto-trifisol/>>. Acceso el: 1 mar. 2019.

TRIHOTCIN SP. Moscow: Agrobiotecnología LLC, [2018]. Disponible en: <http://bioprotection.ru/new/preparations/trihotcin-sp-30-g.html>>. Acceso el: 17 oct. 2018.

TRIKHODERMIN. Nizhny Novgorod: Biobauer, [2018]. Disponible en: <http://www.biobauer.ru/trikhodermin>>. Acceso el: 17 oct. 2018.

TRIXOCZIN SP. Moscow: Agrobiotecnología LLC, [2018]. Disponible en: <http://bioprotection.ru/new/preparations/trixoczin-sp.html>>. Acceso el: 17 oct. 2018.

TROMBO WP: inoculante biológico para compostaje. Palmira: Bio-Crop, 2011. Disponible en: <http://bio-crop.com/wp-content/uploads/2016/06/TROMBO-Ficha-Tecnica-BIO-CROP.pdf>>. Acceso el: 25 feb. 2019.

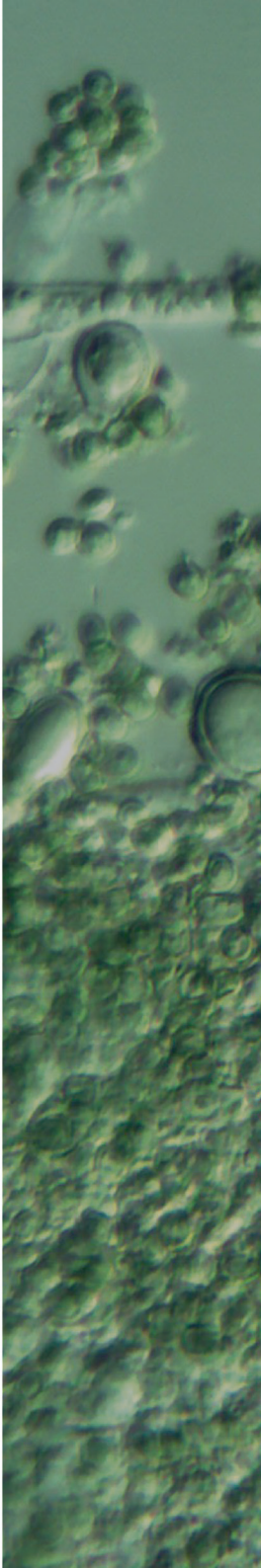
TUSAL WP. Sevilla: New BioTechnic, [2018]. Disponible en: <http://nbt.es/product/tusal/>>. Acceso el: 24 set. 2018.

UNITE NATURAL PROTECTANT BIO-FUNGICIDE WP. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponible en: <http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Agrimm-Unite-1.5kg-2015.pdf>>. Acceso el: 15 feb. 2019.

VINEVAX: wound dressing. Lincoln: Agrimm, 2015. Disponible en: <http://agrimm.co.nz/wp/wp-content/uploads/Agrimm-Vinevax-PW-D-100g.pdf>>. Acceso el: 15 feb. 2019.

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, M.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. Trichoderma-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014.

YASH DERMA. Allahabad: Yash Krishi Takniki Evam Vigyan Kendra, 2018. Disponible en: <http://www.yashkrishi.com/yash-derma>>. Acceso el: 25 sept. 2018.



## PARTE II

# TAXONOMÍA Y FISIOLÓGÍA



# El género *Trichoderma*

*Lucas Magalhães de Abreu*

*Ludwig Heinrich Pfenning*

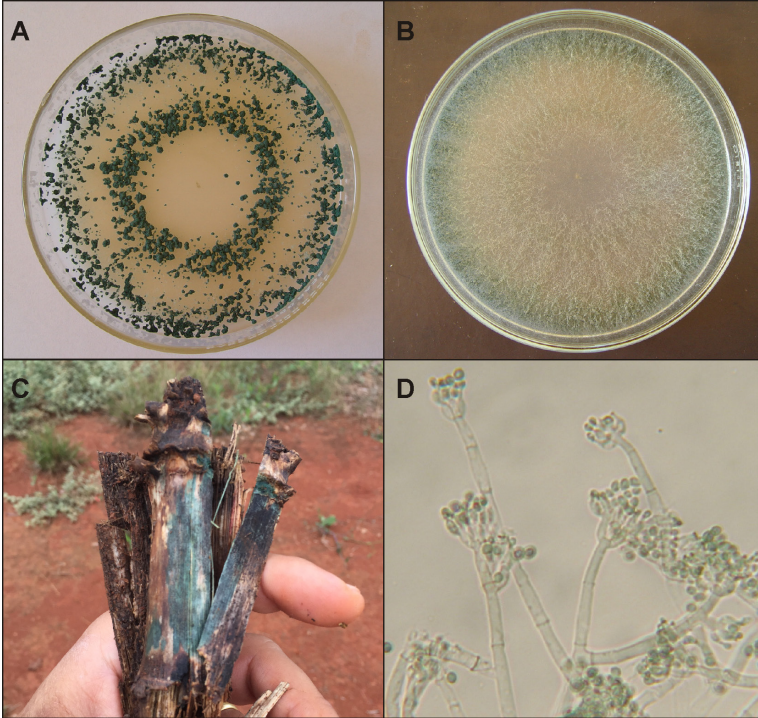
### ¿Qué es *Trichoderma*?

Para quienes estudian hongos habitantes del suelo, tanto de regiones templadas como tropicales, es fácil encontrar representantes del género *Trichoderma* asociados con la fracción orgánica y la rizosfera de las plantas. La madera en descomposición y los hongos que forman cuerpos fructíferos macroscópicos, como los hongos tipo setas y las orejas de palo, también son sustratos comúnmente colonizados por *Trichoderma*. Desde la consolidación del concepto del género *Trichoderma*, a principios del siglo XX, hasta finales de la década de 1960, la única especie reconocida fue *T. viride* (Samuels, 2006). Este nombre hace referencia a la característica llamativa de la producción de colonias con micelio blanco y rápido crecimiento, cubiertas por masas de conidios de color verde, fenotipo que permite un fácil reconocimiento de *Trichoderma* tanto en placas de Petri como en un sustrato natural (Figura 1).

*Trichoderma* pertenece a la clase Sordariomycetes, del filo Ascomycota y, por tanto, en las especies de las cuales se conoce la fase sexual, se caracteriza por la formación de cuerpos fructíferos del tipo peritecio, formados en estroma verde, amarillento, crema o marrón, producido sobre el sustrato colonizado. En los peritecios, se forman ascos cilíndricos que contienen ocho ascosporas bicelulares, que se fragmentan en 16 esporas verdes o hialinas (Jaklitsch, 2009). En la fase asexual, los conidióforos se forman a partir del micelio vegetativo con un eje central y ramificaciones laterales, que terminan en espirales divergentes de células conidiogénicas de tipo fiálide, en forma de botella o alargadas. En la punta de las fiálides se producen conidios típicos unicelulares, esféricos, ovalados o alargados, que son verdes en la mayoría de las especies. Los conidióforos se agregan comúnmente en pústulas o “tufts” extendidos por toda la colonia. Se pueden encontrar hermosas fotografías de alta resolución de estructuras sexuales y asexuales de docenas de especies de *Trichoderma* en monografías recientes del género publicadas por Jaklitsch y colaboradores (Jaklitsch, 2009, 2011, Jaklitsch; Voglmay, 2015).



Fotos: Lucena Magalhães de Abreu (A, B, D), Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros (C).



**Figura 1.** Morfología típica de *Trichoderma*: a, b. Colonias de *Trichoderma* en medio de cultivo; c. *Trichoderma* en sustrato natural; d. Conidióforo con filídes penicilados y conidios de *T. virens*.

Una práctica común de la micología fue el uso de una doble nomenclatura para designar los géneros de ascomicetos según el tipo de reproducción observado, donde se le dio un nombre a la fase asexual, también llamada anamórfica o imperfecta, y otro nombre a la fase sexual, teleomórfica o perfecta. Este sistema fue útil porque las diferentes fases del ciclo de vida de los hongos tienden a ocurrir en momentos y lugares diferentes, lo que dificultaba su reconocimiento. Así, el nombre *Trichoderma* era aplicado a la fase asexual, la cual era generalmente estudiada en colonias dentro de placas de Petri, y el nombre *Hypocrea* era usado la fase sexual, rara vez formada en cultivos puros, pero encontrada en la naturaleza sobre hongos macroscópicos y madera descompuesta. Con la adopción del análisis de secuencias de genes y las inferencias filogenéticas para el estudio de las relaciones de parentesco y definición de especies de hongos, a partir de finales de la década de los noventa se hizo más clara la conexión entre las fases sexual y asexual de un mismo organismo, lo que permitió identificarlo independientemente de la fase del ciclo reproductivo. Así, en un árbol filogenético se observaron grupos o clados que contenían ambos aislamientos de *Trichoderma* e *Hypocrea*, sin distinción genética,

comprobando que pertenecían a la misma especie (Chaverri; Samuels, 2003; Kuhls et al., 1997). Como consecuencia del uso de la filogenia molecular para la definición de especies, la práctica de la doble nomenclatura quedó obsoleta y entró en desuso en 2013, cuando todas las especies de hongos fueron designadas por un solo nombre. El nombre de la fase asexual *Trichoderma* se ha mantenido, mientras que el nombre de la fase sexual, *Hypocrea*, se hizo obsoleto (Rossman et al., 2013). Se puede encontrar una lista de nombres válidos en el género *Trichoderma* en Bisset et al. (2015). En este capítulo, abordaremos brevemente la compleja y dinámica taxonomía de *Trichoderma* y las estrategias útiles para la identificación de especies, y discutiremos aspectos de la biología y el uso de algunos grupos de especies de interés.

### **Origen, diversidad ecológica y uso de *Trichoderma***

Actualmente se aceptan más de 250 especies de *Trichoderma* y se pueden identificar mediante filogenia molecular. La mayoría de estas especies no son habitantes del suelo con una amplia distribución geográfica, sino que, por el contrario, tienen una distribución restringida y están compuestos por especies parásitas de hongos macroscópicos y descomponedores de madera en bosques tropicales y templados (Druzhinina et al., 2011). Este hallazgo sugiere que la capacidad de parasitar otros hongos y alimentarse de biomasa fúngica muerta representa una característica ancestral del género y es compartida por la mayoría de las especies (Kubicek et al., 2011). Sin embargo, se produjo una clara diversificación fisiológica durante la evolución de las especies de *Trichoderma* y la capacidad de degradar los materiales lignocelulósicos pudo haber surgido después de cambios de hospedador o 'host jumps' desde los basidiocarpos de hongos descomponedores de madera a la madera misma. La aparición de saltos de hospedador de descomponedores de madera a micoparásitos también parece haber ocurrido durante la evolución del género (Druzhinina et al., 2011; Chaverri; Samuels, 2013). Los hongos descomponedores de la madera de la especie *T. reesei* se han utilizado, desde mediados del siglo XX, para la producción a gran escala de enzimas celulolíticas aplicadas en las industrias de la confección, la alimentación y la bioenergía (Schuster; Schmoll, 2010).

La colonización del suelo, por otro lado, parece estar más restringida a unas pocas docenas de especies 'oportunistas ambientales', altamente adaptadas a la vida y competencia en el suelo y la rizosfera y distribuidas por todo el planeta (Druzhinina et al., 2011). Las especies de *Trichoderma* consideradas oportunistas ambientales se caracterizan por algunos fenotipos comunes, como amplia distribución geográfica, crecimiento rápido y colonización agresiva de nichos en el suelo y rizosfera, alta capacidad para parasitar o depredar otros hongos y, en varias especies ocurre la capacidad para establecer interacciones beneficiosas con las plantas, lo que resulta en la promoción del crecimiento e inducción de la resistencia a enfermedades y estrés abióticos (Harman et al., 2004). De esta manera, la mayoría de las

formas de *Trichoderma* que son frecuentemente aisladas, probadas y seleccionadas para el control biológico de enfermedades y promoción del crecimiento, en varias partes del mundo, pertenecen a un grupo limitado de especies (Woo et al., 2014).

Aislados de especies como *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum sensu lato* y *T. virens*, con amplia distribución en el suelo y capacidad para hiperparasitar hongos fitopatógenos y/o establecer interacciones beneficiosas en la rizosfera de plantas cultivadas, se utilizan en el tratamiento de semillas o se aplican en vastas áreas de cultivo para el control biológico de enfermedades de plantas, así como para la promoción del crecimiento de las plantas (Woo et al., 2014). Brasil se destaca en la investigación y el uso comercial de *Trichoderma* como herramienta biológica para el manejo de enfermedades y el aumento de la productividad agrícola (Carvalho et al., 2014, Lopes et al., 2012, Pomela; Ribeiro 2009). En este contexto, el conocimiento básico sobre la biología y taxonomía de estos hongos es fundamental para la selección exitosa de aislamientos eficientes y el uso seguro de *Trichoderma*, dado que, dentro de la gran plasticidad fenotípica del género, pocas especies son capaces de crecer y esporular a temperaturas de hasta 40 °C para iniciar infecciones oportunistas en individuos con inmunosupresión (Druzhinina et al., 2008).

Otro hábitat donde predominan las especies de *Trichoderma* es el interior del tallo, principalmente de árboles en ambientes naturales, hecho que solo fue descubierto y estudiado luego del trabajo pionero de Evans et al. (2003). En los últimos años se han descrito varias especies típicamente endofíticas, principalmente de plantas tropicales y, a pesar de la evidencia del potencial de algunas de estas como organismos antagónicos de patógenos *in vitro*, se sabe poco sobre las interacciones entre las plantas y *Trichoderma* endofíticos en la naturaleza (Chaverri; Samuels, 2013).

### **Aislamiento y caracterización morfológica**

Los aislados de *Trichoderma* pueden ser fácilmente recuperados de suelos con un contenido razonable de materia orgánica. Al estudiar la diversidad de hongos en el suelo, la presencia de *Trichoderma* puede incluso ser un factor negativo, ya que su rápido crecimiento y esporulación masiva en placas de Petri dificultan o suprimen la aparición de otras especies, las cuales son de crecimiento más lento, pero igualmente importantes para el funcionamiento del ecosistema del suelo. El método más utilizado para el aislamiento de hongos del suelo es el método de dilución en serie, procedimiento que favorece el aislamiento de esporas, en detrimento de los hongos que crecen activamente como micelio en las partículas del suelo. Los procedimientos adecuados para el aislamiento de los hongos habitantes del suelo, incluidas las especies de *Trichoderma*, han sido descritos en detalle por Pfenning y Abreu (2008) y se basan en el lavado y filtración de las partículas del suelo, que son plaqueados en un medio

apropiado. La filtración de partículas también se puede utilizar para aislar *Trichoderma* de muestras de hojarasca (López-Quintero et al., 2013).

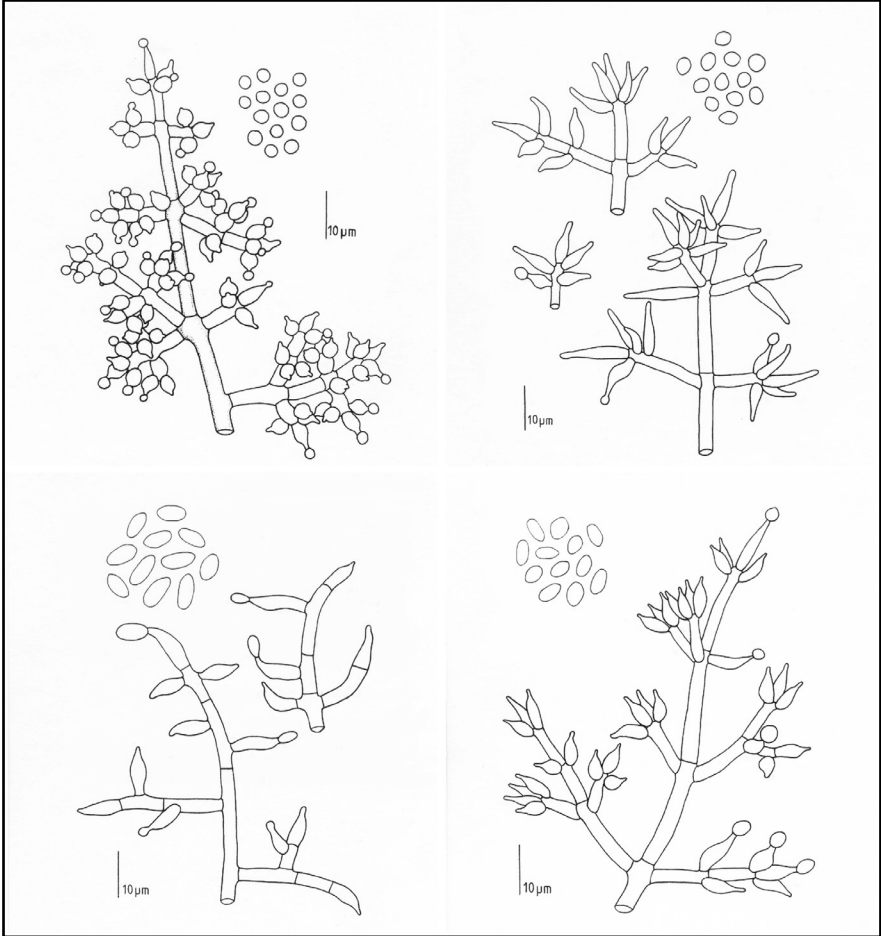
El aislamiento directo, a partir de las estructuras reproductivas producidas sobre el sustrato colonizado, es el procedimiento adecuado para el aislamiento de *Trichoderma* que crece sobre madera muerta y basidiocarpos. Este es el método más utilizado para estudiar la morfología de la fase sexual porque, aunque existen especies de *Trichoderma* tanto heterotálicas como homotálicas o autofértiles, son necesarios estímulos específicos para inducir la formación de peritecios, siendo la fase sexual raramente formada en cultivos puros (Samuels, 2006). La fase sexual de *T. reesei* fue inducida *in vitro*, cruzando individuos de tipos sexuales o *mating types* opuestos (Seidl et al., 2009).

Las especies de *Trichoderma* también se encuentran como endófitas y se encuentran preferentemente en tallos y troncos de plantas leñosas. El aislamiento de estos sustratos se puede realizar con pequeñas incisiones en la corteza para tomar muestras del tejido interno con la ayuda de un bisturí o pinzas flameadas y luego hacer la transferencia directa de los fragmentos a placas de Petri con medio de cultivo (Evans et al., 2003). Los medios de cultivo comunes para el crecimiento, caracterización, mantenimiento o multiplicación de los aislados de *Trichoderma* son Agar Avena (OA - oatmeal agar), Agar Papa Dextrosa (PDA - potato dextrose agar), Agar Extracto de Malta (MA2 - 2% malt extract agar) y Agar bajo en nutrientes (SNA - Spezieller Nährstoffarmer agar).

Los aislados de *Trichoderma* pueden ser fácilmente reconocidos por el micelio algodonoso blanco, que crece rápidamente en medio de cultivo. La temperatura óptima de crecimiento varía entre 25 °C y 30 °C para la mayoría de las especies. A las 48 horas de cultivo pueden aparecer pústulas o círculos verdes, formados por la abundante producción de esporas subhialinas, que adquieren el color verde en masa y dan un aspecto granular o polvoriento a la colonia. Para la preparación de láminas para observación microscópicas se recomienda el uso de colonias nuevas, de dos a tres días, y muestrear cerca de los márgenes de la colonia, evitando que el exceso de conidios interfiera con la observación detallada de conidióforos.

En observaciones al microscopio, los conidióforos típicos de *Trichoderma* se disponen en una arquitectura más o menos piramidal, con diferentes patrones de ramificación (Figura 2). Las prolongaciones de conidióforos estériles se producen en ciertas especies, por ejemplo, *T. hamatum*. Las fiálides son rasgos morfológicos importantes, que se caracterizan por su forma, que puede ser de ovalada a subglobosa, o de cilíndrica a alargada, y por su número y su disposición espacial a lo largo del conidióforo. Las fiálides típicamente divergen desde la base, pero se agregan en estructuras peniciladas en *T. virens*. Los conidios se acumulan en masas compactas o se incrustan en gotas cristalinas sobre las fiálides, como en *T. virens*. Individualmente, los conidios son unicelulares, subhialinos, en diferentes tonalidades de verde, con una superficie lisa a fina o muy rugosa, de unos pocos micrómetros de tamaño y

forma esférica, ovalada o alargada. Algunas especies, como *T. polysporum*, producen conidios completamente hialinos, que cuando se disponen en masa adquieren un color blanco. Las clamidosporas hialinas e intercalares son producidas comúnmente, siendo abundantes en especies como *T. asperellum* y *T. virens*. Este conjunto de características se puede utilizar para agrupar las formas en ‘morfotipos’ o especies morfológicas, que fueron la base de la clasificación hasta el advenimiento de la filogenia molecular (Domsch et al., 2007).



**Figura 2.** Morfología de los conidióforos. A. *Trichoderma inhamatum*; B. *T. harzianum*; C. *T. longibrachiatum*; D. *T. koningii*.

Fonte: Ladwig Heinrich Pfenning

## Sistemática del género *Trichoderma*

Desde finales del siglo XIX se aplicó el nombre de *Trichoderma viride* a todos los hongos formadores de colonias con apariencia típica del género, independientemente de que fueran aislados de muestras de suelo o restos vegetales u obtenidos de ascosporas aisladas de peritecios de diferentes especies de *Hypocrea*. Esta situación fue muy diferente a la de otros géneros de mayor importancia, como *Fusarium*, donde decenas de especies y formas ya habían sido descritas en la década de 1930. La simplicidad taxonómica en *Trichoderma* fue producto del poco interés en el género fuera de la disciplina de la micología y del consenso general de que, microscópicamente, todos los aislamientos tenían “la misma cara” (Samuels, 2006). Esta situación se prolongó hasta finales de la década de 1960, cuando el género se clasificó en nueve “grupos de especies”, reconocidos por diferencias morfológicas de la fase asexual en cultivo puro (Rifai, 1969). El término “agregados” se utilizó simplemente para indicar que las especies con biología y morfología distintas en la fase sexuada podrían compartir la misma morfología en la fase asexual. Debido a su relativa simplicidad, el sistema taxonómico con nueve “especies” fue ampliamente adoptado (Domsch et al., 2007) y todavía se utiliza para la caracterización de *Trichoderma* en morfotipos, aunque no tiene utilidad taxonómica. El esquema taxonómico se amplió a principios de la década de 1990 y algunos agregados de especies se formalizaron en cinco secciones dentro del género; Las características de la fase sexual también se consideraron en las descripciones morfológicas y el número de especies aumentó a aproximadamente 30 (Bissett, 1991; Druzhinina; Kubicek, 2005).

Con la adopción de la filogenia molecular para el estudio sistemático y taxonómico del género, el número de especies descritas ha aumentado considerablemente desde la década del 2000, demostrando que la aparente simplicidad morfológica de *Trichoderma* esconde una gran diversidad de linajes filogenéticos, que divergieron hace millones de años y dio lugar a cientos de especies adaptadas a la colonización de una amplia diversidad de sustratos y hábitats de la Tierra (Druzhinina et al., 2011). El número de especies definidas en función de la filogenia molecular alcanzó las 100 en 2006 (Druzhinina et al., 2006) y actualmente se acerca a 300 especies (Bissett et al., 2015; Plessis et. Al., 2018; Qin; Zhuang, 2016).

Ante la proliferación de especies descritas en los últimos años, el concepto de Secciones ha perdido su utilidad. Actualmente, las especies de *Trichoderma* se clasifican informalmente en grupos monofiléticos o clados bien definidos dentro de la filogenia del género y se nombran según las especies más conocidas en cada clado. El tamaño, los límites y la nomenclatura de estos clados pueden variar entre autores y según el enfoque en los diferentes grupos taxonómicos (Chaverri; Samuels, 2003, Montoya et al., 2016). En un árbol filogenético que incluyó 228 especies de *Trichoderma* que fue construido con secuencias del gen *rpb2*, fueron delimitados diez grandes clados dentro del género (Jaklitsch; Voglmayr, 2015). Nombres comunes para investigadores del



área de control biológico, tales como *T. harzianum* y *T. viride*, como se define tradicionalmente, no corresponden a dos especies sino a dos clados, Harzianum y Viride, compuestos por decenas de especies filogenéticas (Chaverri et al., 2015; Jaklitsch; Voglmayr, 2015).

Un resultado directo de los cambios recientes en la taxonomía es la constatación de que la mayoría de los nombres aplicados a los aislados de *Trichoderma* hasta hace poco, los cuales están basados principalmente en la morfología, no son correctos (Druzhinina; Kubicek, 2005). Esta situación puede generar dudas principalmente entre los usuarios del sistema taxonómico, como investigadores y profesionales de la industria, que utilizan *Trichoderma* en procesos biotecnológicos y en el control biológico de enfermedades de plantas, y que se ven obligados a lidiar con varios posibles nombres de aplicación de los aislamientos con los cuales se han enfrentado durante años. Por otro lado, siempre que se apliquen correctamente, los métodos de identificación molecular y análisis filogenético pueden ser utilizados por quienes no tienen una formación formal en micología, pero con conocimientos básicos en biología molecular y bioinformática, habilidades que son mucho más comunes en la actualidad.

### **Reconocimiento y diversidad de especies filogenéticas dentro de *Trichoderma***

La definición de especies filogenéticas en hongos se basa en la generación y análisis de árboles filogenéticos, construidos con secuencias parciales de genes compartidos y relativamente conservados entre todos los organismos comparados. En este contexto, una especie filogenética se puede definir como el grupo monofilético más pequeño (agrupación formada por un nodo interno y las secuencias que se derivan de él) caracterizado por un conjunto fijo de polimorfismos de ADN dentro de la región secuenciada. En la práctica, la identificación del nodo que delimita especies filogenéticas cercanas no siempre es clara y la solución encontrada es el uso de secuencias de varios genes independientes en el genoma, analizados en combinación para definir los límites entre especies, en un procedimiento designado de acuerdo con la genealogía genética o análisis de múltiples loci (Taylor et al., 2000; Druzhinina; Kubicek, 2005).

La secuencia de los espaciadores internos 1 y 2 transcritos y la región 5.8S o secuencia ITS, comprendida entre las regiones codificantes de las subunidades 18S y 28S del ARN ribosómico, es fácil de amplificar y se utilizó en los primeros estudios de filogenia y caracterización molecular de hongos, incluyendo *Trichoderma* (Kindermann et al., 1998; Kuhls et al., 1997). Esta región, sin embargo, está muy conservada y no ofrece suficiente resolución para la delimitación de especies muy cercanas de *Trichoderma* y otros ascomicetos, aunque sea considerada la región de código de barras universal para la identificación de hongos (Schoch et al., 2012). Un proyecto fue implementado en 2005 por investigadores austriacos en colaboración con el Subcomité Internacional de Taxonomía de *Trichoderma* e *Hypocrea*

(ISTH), con el objetivo de desarrollar y mantener un banco de datos de las secuencias ITS de aislamientos de referencia de todas las regiones, que para el momento llegaba a 100 (Druzhinina et al., 2005). La base de datos aún puede ser accesada a través de la herramienta de búsqueda gratuita TrichOKey (<http://www.isth.info/tools/morphkey/index.php>); sin embargo, la última actualización de esta base de datos parece haberse realizado en 2006 e, incluso en ese momento, ya se reconocía que distintas especies filogenéticas pertenecientes a grupos de especies importantes, como las de los clados Viride y Hamatum, no podían ser separados solo por ITS (Druzhinina et al., 2006). Los genes que codifican proteínas y enzimas con funciones conservadas en eucariotas contienen más polimorfismos, especialmente en las regiones de los intrones y ofrecen una mejor resolución para la delimitación de especies.

Los resultados de las pruebas empíricas, realizadas en las últimas dos décadas, permitieron definir un conjunto de genes codificantes de proteínas útiles para la taxonomía de hongos y que incluye, en el caso de *Trichoderma*, secuencias parciales de la alfa-actina (*act*), calmodulina (*cal*), endoquitinasa CHI18-5 (*chi18-5*), factor de elongación 1-alfa (*tef1*) y la segunda subunidad más grande de la ARN polimerasa II (*rpb2*). Las secuencias de cebadores para la amplificación de estos genes a partir de aislados de *Trichoderma* se pueden encontrar en Samuels et al. (2012).

Luego de la definición de especie filogenética mediante análisis multiloci es posible hacer el razonamiento inverso y comprobar si existe, entre los genes utilizados para la filogenia, uno que sea capaz de delimitar todas o la mayoría de las especies identificadas en el análisis conjunto de varios genes. Este gen podría adoptarse como un código de barras para la identificación molecular de aislamientos, comparándolo con secuencias de referencia de especies ya conocidas y disponibles en bases de datos públicas, como *GenBank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). El código de barras para la identificación de *Trichoderma es tef1*, seguido de cerca por *rpb2*, con una resolución similar (Chaverri et al., 2015; Jaklitsch; Voglmayr 2015).

En cuanto al uso práctico de secuencias de ADN para la identificación molecular de *Trichoderma*, se sugiere una comparación con la base de datos *GenBank* del *National Center for Biotechnology Information*, a través de la herramienta BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) y el uso de secuencias *tef1* o *rpb2*. Para la correcta identificación, el usuario debe basarse en la comparación con secuencias de referencia, derivadas de aislamientos utilizados en trabajos publicados con la taxonomía del género. Este aspecto es crucial, ya que hay millones de secuencias en *GenBank* y el nombre de una especie atribuida a una secuencia de ADN es responsabilidad exclusiva del autor del depósito y no existe garantía de que este sea correcto.

Un aspecto importante sobre la identificación molecular es el procedimiento a usar cuando no es posible obtener el 100% de identidad de la secuencia de interés con alguna secuencia de referencia



en la base de datos. Los valores de identidad en el rango del 99% para *tef1* y *rpb2*, y que incluso correspondan a un solo nombre en la base de datos, pueden considerarse como una identificación positiva. En el caso de valores por debajo del 99% de identidad (considerando que hay una buena cobertura de la secuencia objetivo y el valor estimado del parámetro de *E-valor* próximo a cero) y cuando el investigador quiere tener una confirmación más robusta de la identificación, lo sugerido es la composición de un alineamiento múltiple con secuencias de *tef1* y/o *rpb2* de los aislamientos a identificar y de aislamientos de referencias de especies cercanas a las obtenidas en el resultado del *GenBank*, seguido de la realización de análisis filogenéticos con protocolos comúnmente utilizados en la taxonomía de *Trichoderma* (Chaverri et al., 2015). La región *rpb2* no tiene intrones en la extensión generalmente secuenciada, siendo fácilmente alineada y, por tanto, utilizada para inferir filogenias globales, con especies de diferentes clados en un árbol. *Tef1*, por otro lado, tiene una mejor resolución para separar especies muy cercanas, pero no es una región fácilmente alineada cuando se insertan especies muy divergentes en el mismo análisis (Jaklitsch; Voglmayr, 2015).

Si bien el criterio de filogenia molecular prevalece en la delimitación de las especies, la práctica taxonómica actual intenta ser polifásica, previendo la evaluación conjunta de caracteres morfológicos, producción de metabolitos específicos y aspectos de biogeografía para el reconocimiento de especies de *Trichoderma* (Chaverri et al., 2015). Los enfoques quimiotaxonómicos implican la obtención y comparación de perfiles de metabolitos secundarios o proteínas de bajo peso molecular, como las hidrofobinas, producidas por aislamientos de diferentes especies (Neuhof et al., 2007, Samuels et al., 2010). Los peptaiboles son oligopéptidos bioactivos lineales, que contienen aminoácidos no proteinogénicos, como el ácido aminoisobutírico. Cientos de variantes de estas sustancias son producidas por especies de *Trichoderma*, y los perfiles de producción de peptaiboles son útiles para la caracterización quimiotaxonómica (Degenkolb et al., 2008). La actividad antifúngica de los peptaiboles puede estar relacionada con la degradación de la membrana plasmática y la consiguiente pérdida de turgencia de las células afectadas. Los productos para el control biológico formulados a base de conidios de especies de *Trichoderma* del clado *Harzianum* están naturalmente enriquecidos en peptaiboles (Degenkolb et al., 2015). La producción de micotoxinas en la familia de los tricotecenos es conocida entre las especies del clado *Brevicompactum*, pero estas especies no se usan comúnmente en programas de control biológico (Degenkolb et al., 2008).

En la Figura 3 se muestra una filogenia simplificada del género *Trichoderma*, basada en secuencias de la región *rpb2*, que contiene clados con representantes de especies comúnmente aisladas del suelo y de restos vegetales, así como las que se utilizan con frecuencia en el control biológico de enfermedades de plantas. A continuación, se presenta una breve discusión de las especies de interés dentro de algunos clados.



**Figura 3 .** Árbol filogenético de máxima verosimilitud con secuencias parciales de rpb2 de aislamientos representativos de *Trichoderma* spp. Los valores de soporte de rama superiores a 70%, determinados por pseudo-repeticiones de bootstrap, se indican en los nodos. El aislado de *Protocrea farinosa* CBS 121554 se utilizó como grupo externo. El árbol fue generado por el programa RaxML v.8, implementado en el portal CIPRES (<https://www.phylo.org/>).

Fuente: Lucas Magalhães de Abreu

### **Clado Harzianum**

*Trichoderma harzianum* es la ‘morfoespecie’ más comúnmente utilizada en el control biológico de enfermedades de plantas en el mundo (Woo et al., 2014), y prevalece en estudios de diversidad de especies en suelos y restos vegetales en varias regiones geográficas (Domsch et al., 2007). Sin embargo, el concepto de esta especie, tal como se define tradicionalmente, engloba una variedad de especies filogenéticas, algunas cosmopolitas, mientras que otras con una distribución más restringida, que conforman el clado Harzianum (Chaverri et al., 2015). Así, muchos de los aislamientos identificados como *T. harzianum* en la literatura se pueden caracterizar mejor como *T. harzianum sensu lato*, es decir, en un sentido amplio, utilizando la jerga taxonómica.

El clado Harzianum contiene poblaciones recombinantes, es decir, especies biológicas, así como poblaciones claramente clonales, además de algunas cepas filogenéticas solitarias que divergen de las demás, lo que dificulta la aplicación de un concepto único para la definición de especie (Druzhinina et al., 2011). Una revisión taxonómica reciente del clado Harzianum propuso el reconocimiento de decenas de especies, delimitadas según el criterio de concordancia de genealogía genética (Chaverri et al., 2015) y desde entonces se han hecho nuevas incorporaciones (Jaklitsch; Voglmayr, 2015; Montoya et al., 2016). El grupo monofilético que contiene el material biológico utilizado como neotipo de la especie (Gams; Meyer, 1998) mantuvo el nombre de *T. harzianum sensu stricto* (en sentido estricto) y se atribuyeron otros nombres al resto de especies filogenéticas.

En una muestra de casi doscientos aislamientos del clado Harzianum, de varios sustratos y regiones, se identificaron algunos patrones biogeográficos (Chaverri et al. 2015). *Trichoderma harzianum sensu stricto* es una especie poco común con una distribución predominante en el hemisferio norte. Las especies *T. afroharzianum* y *T. guizhouense* tienen una distribución cosmopolita y predominancia en suelos. *Trichoderma afarasin* y *T. lentiforme* se presentan comúnmente como endófitos, pero también como habitantes del suelo, en África y América tropical, respectivamente. Algunas especies son aparentemente endofíticas, mientras que otras son predominantemente micoparásitas, incluidas especies como *T. pleurotum* y *T. aggressivum*, aisladas como parásitos agresivos en los sistemas de producción de hongos comestibles. Estos patrones de distribución pueden ser tomados en cuenta en la búsqueda de aislamientos de *T. harzianum sensu lato* para control biológico, con la expansión del muestreo para otros sustratos, no solo en suelo, además del muestreo en diferentes regiones geográficas.

Los aislamientos que componen dos productos de control biológico vendidos en Europa y los EE. UU. han sido re-identificados como *T. afroharzianum*, incluyendo el famoso aislado T-22, desarrollado a partir de la fusión de protoplastos y ampliamente comercializado para el biocontrol y la promoción del crecimiento de las plantas (Harman, 2000; Harman et al., 2010). Los aislamientos de otros tres productos disponibles en el hemisferio norte fueron

re-identificados como pertenecientes a dos especies del clado Harzinaum: *T. guizhouense* y *T. simonsii* (Chaverri et al., 2015). En Brasil se comercializan biofungicidas formulados con aislados de *T. harzianum sensu lato*.

### Clado Virens

La especie cosmopolita *T. virens* y algunas especies relacionadas forman el clado Virens, que es filogenéticamente cercano al clado Harzianum. Previamente clasificada en el género *Gliocladium*, la especie *T. virens* tiene una morfología de fácil diagnóstico, caracterizada por la producción de conidióforos con fálides agregadas de manera convergente, adquiriendo un aspecto penicilado, diferente al típico patrón divergente en *Trichoderma* (Figura 1d). Los conidios son verdes, pero comúnmente inmersos en gotas cristalinas y no se agregan en masa. *T. virens*, habitante común del suelo, también se encuentra en nidos de hormigas cortadoras de hojas en Brasil (Montoya et al., 2016). Los aislados de *T. virens* son antagonistas de otros hongos y se han utilizado durante décadas en el control biológico de enfermedades causadas por patógenos del suelo, incluidos principalmente hongos y oomicetos (Howell, 2006). Estos actúan por diferentes modos de acción, con énfasis en la antibiosis, mediante la excreción de enzimas líticas y metabolitos secundarios de la familia de las dicetopiperazinas, especialmente gliotoxina y glioviridina (Atanasova et al., 2013; Howell, 2003).

### Clado Stromaticum

*Trichoderma stromaticum* es una especie restringida a América tropical, asociada al cacao y al parásito *Moniliophthora perniciosa*, patógeno de la escoba de bruja del cacao (Samuels et al., 2000). El hongo se encuentra generalmente en ramas y escobas muertas, frutos y hojas momificados, así como también crece en el micelio y basidiocarpos de *M. perniciosa*. *T. stromaticum* también puede ocurrir en frutos de cacao parasitados por *M. roleri*, patógeno de la moniliasis (Samuels et al., 2012). Las descripciones de las fases asexual y sexual de *T. stromaticum* se realizaron a partir de materiales aislados de regiones productoras de cacao en Brasil (Samuels et al., 2000, Bezerra et al., 2003) y el uso de esta especie para el manejo de la escoba de bruja se implementó en los campos de producción de Bahía en los años 90. *Trichoderma stromaticum* y algunas especies cercanas forman el clado Stromaticum. Sin embargo, a pesar de la proximidad filogenética, ninguna otra especie de este clado parece ser común en las regiones neotropicales (Samuels et al., 2012).

### Clado Viride (incluidos Clados Hamatum y Koningii)

La especie *T. viride sensu stricto* está incluida en un gran clado compuesto por docenas de especies con diferentes patrones de morfología, incluido el patrón viride - con conidióforos

piramidales, conidios globosos y de paredes rugosas, el patrón *Koningii* - con conidios de oblongo a elipsoidales, y el patrón *Hamatum* - con fíalides subglobosas en agregados compactos y conidióforos con terminaciones estériles alargadas. Debido a la gran cantidad de especies filogenéticas presentes en el clado Viride, este puede separarse en diferentes subclados, cada uno con decenas de especies, como los subclados Viride, Viridescens, *Koningii* y *Hamatum* (Jaklitsch et al., 2006, Samuels et al., 2006, Jaklitsch et al., 2013). *Trichoderma atroviride* es una especie ubicada entre los subclados Viride y *Koningii* y utilizada como modelo en el estudio genómico del fenotipo de micoparasitismo (Atanasova et al., 2013). La mayor parte de la diversidad de especies descrita en los subclados Viride, Viridescens y *Koningii* proviene de colecciones realizadas en Europa y Estados Unidos y, por lo tanto, se considera común en el hemisferio norte. Una de las excepciones a este patrón es *T. koningiopsis*, que tiene una amplia distribución y prevalencia en los trópicos, donde se encuentra en muestras de suelo, hojarasca y como endófitos. *T. ovalisporum* es otra especie del subclado *Koningii* con presencia neotropical y un hábito típicamente endofítico (Samuels et al., 2006). Aislamientos de *T. koningiopsis* y *T. ovalisporum*, obtenidos como endófitos de árboles de cacao, son antagonistas de *M. royeri*, con potencial para el control biológico de la moniliasis (Holmes et al., 2004).

Agrupadas en el subclado *Hamatum* están las especies *T. asperellum* y *T. asperelloides*, dos especies filogenéticas hermanas, con la misma morfología, pero diferentes patrones moleculares y fisiológicos (Samuels et al., 2010). Los aislamientos de *T. asperellum* y *T. asperelloides* son habitantes comunes del suelo en el neotrópico (Hoyos-Carvajal et al., 2009), micoparásitos agresivos y pueden inducir resistencia sistémica en plantas (Shoresh et al., 2005), con aislamientos utilizados en el control biológico de enfermedades (Samuels et al., 2010), incluidos los biofungicidas comercializados en Brasil (Woo et al., 2014).

### Clado *Longibrachiatum*

Las especies del clado *Longibrachiatum* forman un grupo compacto dentro de la filogenia del género y comparten características morfológicas que incluyen la formación de conidióforos con ramificaciones escasas y disposición irregular de las fíalides a lo largo del eje principal y ramificaciones. *Trichoderma reesei* es una especie saprofita con gran capacidad de degradación de sustratos celulósicos. Un aislado de esta especie ha sido ampliamente utilizado para la producción de enzimas celulolíticas, a escala industrial, desde mediados del siglo XX (Martínez et al., 2008; Bischof et al., 2016). Las especies de este clado son mesófilas, capaces de crecer rápidamente y esporular incluso a 40 °C. Debido a esta característica, aislados de algunas especies de este clado pueden iniciar infecciones oportunistas en individuos con inmunosupresión, con énfasis en *T. bissettii*, *T. citrinoviride* y *T. longibrachiatum sensu stricto* (Druzhinina et al., 2008, Sandoval-Denis et al., 2014).

## Referencias

- ATANASOVA, L.; LE CROM, S.; GRUBER S.; COULPIER, E.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma mycoparasitism*. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, p. 121, 2013.
- BEZERRA, J. L.; COSTA, J. C. B.; BASTOS, C. N.; FALEIRO, F. G. *Hypocrea stromaticae*, teleomorfo de *Trichoderma stromaticum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 408-412, 2003.
- BISCHOF, R. H.; RAMONI, J.; SEIBOTH, B. Cellulases and beyond: the first 70 years of the enzyme producer *Trichoderma reesei*. **Microbial Cell Factories**, v. 15, n. 1, p. 106, 2016.
- BISSETT, J. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. **Canadian Journal of Botany**, v. 69, n. 11, p. 2357-2372, 1991.
- BISSETT, J.; GAMS, W.; JAKLITSCH, W.; SAMUELS, G. J. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. **IMA Fungus**, v. 6, n. 2, p. 263-295, 2015.
- CARVALHO, D. D.; LOBO JUNIOR, M.; MARTINS, I.; INGLIS, P. W.; MELLO, S. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 5, p. 384-391, 2014.
- CHAVERRI, P.; SAMUELS, G. J. *Hypocrea/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae): species with green ascospores. Utrecht: The Netherlands an institute of the Royal Netherlands; Academy of Arts and Sciences; Central Bureau voor Schimmelcultures, 2003. (Studies in Mycology, 48).
- CHAVERRI, P.; SAMUELS, G. J. Evolution of habitat preference and nutrition mode in a cosmopolitan fungal genus with evidence of interkingdom host jumps and major shifts in ecology. **Evolution**, v. 67, n. 10, p. 2823-2837, 2013.
- CHAVERRI, P.; BRANCO-ROCHA, F.; JAKLITSCH, W.; GAZIŞ, R.; DEGENKOLB, T.; SAMUELS, G. J. Systematics of the *Trichoderma harzianum* species complex and the re-identification of commercial biocontrol strains. **Mycologia**, v. 107, n. 3, p. 558-590, 2015.
- DEGENKOLB, T.; DIECKMANN, R.; NIELSEN, K. F.; GRÄFENHAN, T.; THEIS, C.; ZAFARI, D.; THRANE, U. The *Trichoderma brevicompactum* clade: a separate lineage with new species, new peptaibiotics, and mycotoxins. **Mycological Progress**, v. 7, n. 3, p. 177-219, 2008.
- DEGENKOLB, T.; FOG NIELSEN, K.; DIECKMANN, R.; BRANCO ROCHA, F.; CHAVERRI, P.; SAMUELS, G. J.; BRÜCKNER, H. Peptaibol, secondary metabolite, and hydrophobin pattern of commercial biocontrol agents formulated with species of the *Trichoderma harzianum* complex. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, n. 4, p. 662-684, 2015.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. 2nd ed. Eching: IHW Verlag, 2007. 672 p. DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KOMO, M.; BISSETT, J.; SZAKACS, G.; KUBICEK, C. P. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 42, n. 10, p. 813-828, 2005.
- DRUZHININA, I.; KUBICEK, C. P. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters. **Journal of Zhejiang University. Science. B**, v. 6, n. 2, p. 100, 2005.
- DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. **Mycoscience**, v. 47, n. 2, p. 55, 2006.
- DRUZHININA, I. S.; KOMO -ZELAZOWSKA, M.; KREDICS, L.; HATVANI, L.; ANTAL, Z.; BELAYNEH, T.; KUBICEK, C. P. Alternative reproductive strategies of *Hypocrea orientalis* and genetically close but clonal *Trichoderma longibrachiatum*, both capable of causing invasive mycoses of humans. **Microbiology**, v. 154, n. 11, p. 3447-3459, 2008.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749, 2011.
- EVANS, H. C.; HOLMES, K. A.; THOMAS, S. E. Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. **Mycological Progress**, v. 2, n. 2, p. 149-160, 2003.
- GAMS, W.; MEYER, W. What exactly is *Trichoderma harzianum*? **Mycologia**, v. 90, n. 5, p. 904-915, 1998.
- HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.

- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43, 2004.
- HARMAN, G. E.; OBREGÓN, M. A.; SAMUELS, G. J.; LORITO, M. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and the developed world. **Plant Disease**, v. 94, n. 8, p. 928-939, 2010.
- HOLMES, K. A.; SCHROERS, H. J.; THOMAS, S. E.; EVANS, H. C.; SAMUELS, G. J. Taxonomy and biocontrol potential of a new species of *Trichoderma* from the Amazon basin of South America. **Mycological Progress**, v. 3, n. 3, p. 199-210, 2004.
- HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.
- HOWELL, C. R. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 178-180, 2006.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropical regions. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, n. 9, p. 615-631, 2009.
- JAKLITSCH, W. M.; SAMUELS, G. J.; DODD, S. L.; LU, B. S.; DRUZHININA, I. S. *Hypocrea rufa/Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. **Studies in Mycology**, v. 56, p. 135-177, 2006.
- JAKLITSCH, W. M. European species of *Hypocrea* Part I. The green-spored species. **Studies in Mycology**, v. 63, p. 1-91, 2009.
- JAKLITSCH, W. M. European species of *Hypocrea* part II: species with hyaline ascospores. **Fungal Diversity**, v. 48, n. 1, p. 1-250, 2011.
- JAKLITSCH, W. M.; SAMUELS, G. J.; ISMAEL, A.; VOGLMAYR, H. Disentangling the *Trichoderma viridescens* complex. **Persoonia**, v. 31, p. 112-146, 2013.
- JAKLITSCH, W. M.; VOGLMAYR, H. Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. **Studies in Mycology**, v. 80, p. 1-87, 2015.
- KINDERMANN, J.; EL-AYOUYI, Y.; SAMUELS, G. J.; KUBICEK, C. P. Phylogeny of the genus *Trichoderma* based on sequence analysis of the Internal Transcribed Spacer region 1 of the rDNA Cluster. **Fungal Genetics and Biology**, v. 24, n. 3, p. 298-309, 1998.
- KUBICEK, C. P.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SEIDL-SEIBOTH, V.; MARTINEZ, D. A.; DRUZHININA, I. S.; THON, M.; MUKHERJEE, M. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, R40, 2011.
- KUHL, K.; LIECKFELDT, E.; SAMUELS, G. J.; MEYER, W.; KUBICEK, C. P.; BÖRNER, T. Revision of *Trichoderma* sect. *Longibrachiatum* including related teleomorphs based on analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. **Mycologia**, v. 89, n. 3, p. 442-460, 1997.
- LOPES, F. A. C.; STEINDORFF, A. S.; GERALDINE, A. M.; BRANDÃO, R. S.; MONTEIRO, V. N.; JÚNIOR, M. L.; SILVA, R. N. Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fungal Biology**, v. 116, n. 7, p. 815-824, 2012.
- LÓPEZ-QUINTERO, C. A.; ATANASOVA, L.; FRANCO-MOLANO, A. E.; GAMS, W.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; THEELEN, B.; DRUZHININA, I. DNA barcoding survey of *Trichoderma* diversity in soil and litter of the Colombian lowland Amazonian rainforest reveals *Trichoderma strigosellum* sp. nov. and other species. **Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 104, n. 5, p. 657-674, 2013.
- MARTINEZ, D.; BERKA, R. M.; HENRISSAT, B.; SALOHEIMO, M.; ARVAS, M.; BAKER, S. E.; DANCHIN, E. G. Genome sequencing and analysis of the biomass-degrading fungus *Trichoderma reesei* (syn. *Hypocrea jecorina*). **Nature Biotechnology**, v. 26, n. 5, p. 553, 2008.
- MONTOYA, Q. V.; MEIRELLES, L. A.; CHAVERRI, P.; RODRIGUES, A. Unraveling *Trichoderma* species in the attine ant environment: description of three new taxa. **Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 109, n. 5, p. 633-651, 2016.
- NEUHOF, T.; DIECKMANN, R.; DRUZHININA, I. S.; KUBICEK, C. P.; NAKARI SETÄLÄ, T.; PENTTILÄ, M.; VON DÖHREN, H. Direct identification of hydrophobins and their processing in *Trichoderma* using intact cell MALDI TOF MS. **The FEBS Journal**, v. 274, n. 3, p. 841-852, 2007.
- PFFENNING, L. H.; ABREU, L. M. Methods for the assessment of soil fungi. Chap. 8. In: MOREIRA, F. M. S.; HUISING, E. J.; BIGNELL, D. E. (Ed.). **A handbook of tropical soil biology: sampling & characterization of below-ground biodiversity**. London: Earthscan, 2008.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas—uma visão empresarial. **Biocontrole de Doenças de Plantas**, v. 239, 2009.

- PLESSIS, I. L.; DRUZHININA, I. S.; ATANASOVA, L.; YARDEN, O.; JACOBS, K. The diversity of *Trichoderma* species from soil in South Africa, with five new additions. **Mycologia**, v. 110, n. 3, p. 559-583, 2018.
- QIN, W. T.; ZHUANG, W. Y. Seven wood-inhabiting new species of the genus *Trichoderma* (Fungi, Ascomycota) in Viride clade. **Scientific Reports**, v. 6, p. 27074, 2016.
- RIFAI, M. A. A revision of the genus *Trichoderma*. **Mycological Papers**, v. 116, p. 1-56, 1969.
- ROSSMAN, A. Y.; SEIFERT, K. A.; SAMUELS, G. J.; MINNIS, A. M.; SCHROERS, H. J.; LOMBARD, L.; GEISER, D. M. Genera in Bionectriaceae, Hypocreaceae, and Nectriaceae (Hypocreales) proposed for acceptance or rejection. **IMA Fungus**, v. 4, n. 1, p. 41-51, 2013.
- SAMUELS, G. J.; PARDO-SCHULTHEISS, R.; HEBBAR, K. P.; LUMSDEN, R. D.; BASTOS, C. N.; COSTA, J. C.; BEZERRA, J. L. *Trichoderma stromaticum* sp. nov., a parasite of the cacao witches broom pathogen. **Mycological Research**, v. 104, n. 6, p. 760-764, 2000.
- SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195-206, 2006.
- SAMUELS, G. J.; DODD, S. L.; LU, B. S.; PETRINI, O.; SCHROERS, H. J.; DRUZHININA, I. S. The *Trichoderma koningii* aggregate species. **Studies in Mycology**, v. 56, p. 67-133, 2006.
- SAMUELS, G. J.; ISMAIEL, A.; BON, M. C.; DE RESPINIS, S.; PETRINI, O. *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. **Mycologia**, v. 102, n. 4, p. 944-966, 2010.
- SAMUELS, G. J.; ISMAIEL, A.; DE SOUZA, J.; CHAVERRI, P. *Trichoderma stromaticum* and its overseas relatives. **Mycological Progress**, v. 11, n. 1, p. 215-254, 2012.
- SANDOVAL-DENIS, M.; SUTTON, D. A.; CANO-LIRA, J. F.; GENÉ, J.; FOTHERGILL, A. W.; WIEDERHOLD, N. P.; GUARRO, J. Phylogeny of the clinically relevant species of the emerging fungus *Trichoderma* and their antifungal susceptibilities. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, p. 2112-2125, 2014.
- SCHOCH, C. L.; SEIFERT, K. A.; HUHNDORF, S.; ROBERT, V.; SPOUGE, J. L.; LEVESQUE, C. A. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.
- SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 787-799, 2010.
- SEIDL, V.; SEIBEL, C.; KUBICEK, C. P.; SCHMOLL, M. Sexual development in the industrial workhorse *Trichoderma reesei*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 33, p. 13909-13914, 2009.
- SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005.
- TAYLOR, J. W.; JACOBSON, D. J.; KROKEN, S.; KASUGA, T.; GEISER, D. M.; HIBBETT, D. S.; FISHER, M. C. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. **Fungal Genetics and Biology**, v. 31, n. 1, p. 21-32, 2000.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, 2014.





# *Trichoderma* y sus mecanismos de acción para el control de enfermedades de plantas

Enrique Monte

Wagner Bettiol

Rosa Hermosa

## Introducción

*Trichoderma* es un género de hongos anamórficos (aquellos cuya reproducción sexual es desconocida) que fue descrito hace 225 años para clasificar un hongo descomponedor de madera y que producía masas de esporas verdes en los extremos de las hifas, llamado *Trichoderma viride*. Casi 70 años después, se comprobó que *T. viride* era la forma asexual del ascomiceto *Hypocrea rufa*. Actualmente, la taxonomía admite el nombre “*Trichoderma*” para todos los hongos que tienen las características del género, con o sin reproducción sexual dentro del género *Hypocrea*, y el nombre “*Hypocrea*” solo se usa cuando se observan ascosporas en una cepa de *Trichoderma*.

Con los datos moleculares actualmente disponibles para manejar la taxonomía de *Trichoderma*, el número de especies ha aumentado de nueve grupos de especies establecidas, con diferentes atributos morfológicos, a más de 200 (Atanasova, 2014). Este número sigue creciendo, principalmente debido al trabajo desarrollado por el Subcomité Internacional de Taxonomía de *Trichoderma* e *Hypocrea* (ISTH), que ha desarrollado métodos para la identificación rápida y clasificación molecular de nuevas especies. Además de la correcta identificación de las cepas de *Trichoderma* que son seleccionadas como agentes de control biológico de enfermedades de plantas (Hermosa et al., 2000), los métodos moleculares permiten estudios de colonización de sustratos y nichos ecológicos (tales como: suelos, madera, rizosfera, etc.) utilizando PCR en tiempo real y marcadores tipo SCAR (Rubio et al., 2005).

En otros capítulos de este libro se describen las principales características del género *Trichoderma* y se argumenta que algunas cepas de este hongo filamentoso son versátiles agentes de control biológico de enfermedades de plantas, aplicables de diferentes formas en la agricultura y que son efectivas contra diferentes tipos de patógenos, en numerosos cultivos y en diferentes partes de la planta, además de actuar en diferentes condiciones ambientales y edáficas. En este capítulo se abordará el conocimiento detallado de las especies de *Trichoderma* y sus mecanismos de acción, no solo como agentes de control biológico, sino también como microorganismos simbióticos de plantas, constituyendo así un modelo de estudio del mutualismo entre hongos y plantas con un enfoque molecular, que por un lado, permite la alimentación y crecimiento del hongo y, por el otro, permite a las plantas desarrollarse y defenderse del ataque de patógenos y de situaciones de estrés abiótico y biótico.

### **¿Por qué *Trichoderma* es tan particular?**

Esta pregunta se puede responder planteando que la principal característica de las especies de *Trichoderma* es que están dotadas de un gran oportunismo, presentando una alta capacidad para colonizar la rizosfera de plantas y varios sustratos con diferentes características, en ambientes tan distintos como los de la Antártida, el Caribe, la Amazonía o el Sahara. La mayoría de las cepas de *Trichoderma* viven en climas templados y suelos ácidos. Sin embargo, pueden producir estructuras de resistencia, clamidosporas y microesclerocios, y con ello son capaces de sobrevivir en condiciones muy adversas. Además, se han obtenido cepas de *Trichoderma* con potencial de biocontrol de fitopatógenos que crecen a altas temperaturas, suelos salinos o alcalinos y en condiciones de baja humedad.

Los hongos se alimentan absorbiendo nutrientes a través de sus hifas. Por tanto, para atravesar la pared celular y utilizar los componentes como nutrientes, los sustratos de alto peso molecular deben hidrolizarse a moléculas más pequeñas. Para ello, los hongos liberan enzimas extracelulares que, cuanto más diversas y numerosas, proporcionarán mayores ventajas para vivir en ambientes con diferentes condiciones. La secuenciación y comparación de los genomas de diferentes especies de *Trichoderma* demostraron que estos organismos poseen un elevado número de genes que codifican proteínas chaperonas (son proteínas que reparan el daño celular causado por el crecimiento en condiciones adversas) y transportadores ABC (proteínas de la membrana celular que favorecen la entrada de muchos nutrientes y precursores biosintéticos, que secretan metabolitos primarios y secundarios, y que eliminan sustancias tóxicas y agroquímicos absorbidos por las células) que le proporcionan un amplio oportunismo ambiental. Es especialmente relevante para las especies de *Trichoderma* por el hecho de poseer el mayor número, en calidad y cantidad, de genes que codifican enzimas hidrolíticas, como glucanasas, quitinasas y proteasas, de

todo el Reino Fungi. Esta característica, asociada al gran arsenal de metabolitos secundarios producidos, muchos de ellos con actividad antibiótica, marca al micoparasitismo como la forma de vida ancestral de este género (Kubicek et al., 2011).

En un evento evolutivo posterior, las especies de *Trichoderma* que parasitaban las hifas de los hongos descomponedores de la madera adquirieron, a través de la transferencia horizontal de genes, la capacidad de degradar la materia orgánica vegetal (Druzhinina et al., 2018), adquiriendo así las enzimas necesarias para cambiar su estilo de vida hacia la colonización de la rizosfera, endofitismo y una relación beneficiosa y estable con las plantas.

### **El micoparasitismo en *Trichoderma***

Una de las características más relevantes del género *Trichoderma* es su capacidad para parasitar hongos. La capacidad de *T. virens* para envolver, penetrar y destruir el contenido citoplasmático de *Rhizoctonia solani* se conoce desde hace mucho tiempo (Weindling, 1932). También se sabe que los metabolitos producidos por *T. virens* son capaces de inhibir el crecimiento de *R. solani* y *Monilinia fructicola* (Weindling, 1934).

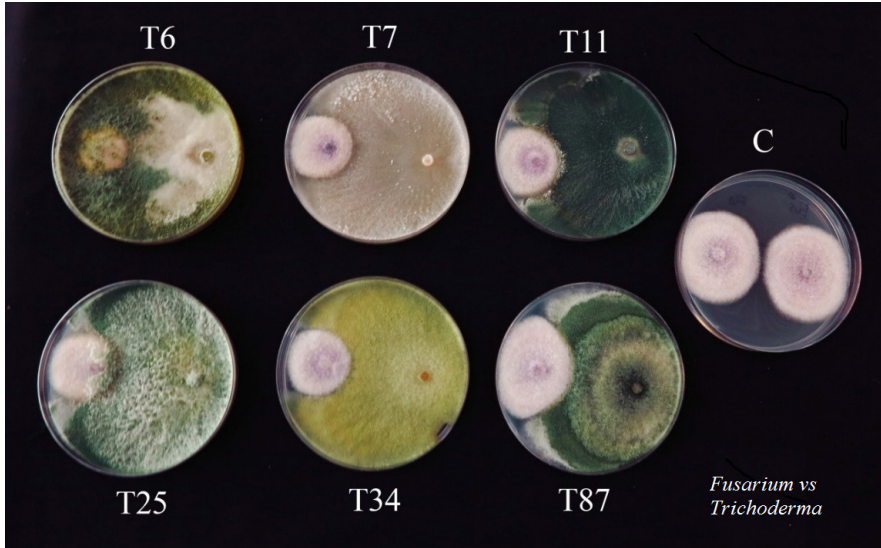
Los estudios ecofisiológicos han demostrado que, en mayor o menor medida, todas las especies de *Trichoderma* son parásitos efectivos de hongos fitopatógenos y oomicetos (Druzhinina et al., 2018), como estrategia de nutrición biotrófica. Sin embargo, las especies de *Trichoderma* también son capaces de alimentarse de biomasa de hongos y oomicetos muertos, por lo que resulta más apropiado utilizar el término micotrofia para definir este estilo de vida tan común en especies de *Trichoderma*. Los estudios de genómica comparativa entre especies de *Trichoderma* indicaron una predisposición genética a la micotrofia (Kubicek et al., 2011). La asociación de cepas de *Trichoderma* e *Hypocrea* con basidiomicetos que degradan la madera o con hongos fitopatógenos, que crecen y parasitan sus estructuras de resistencia, como los esclerocios, se ha propuesto como un paso previo en la colonización de material vegetal como nicho ecológico opcional. De hecho, *T. reesei* produce enzimas celulolíticas y hemicelulolíticas que le han permitido vivir de material vegetal, predegradado por descomponedores y patógenos fúngicos, más que a expensas de otros hongos.

A pesar de lo amplio del género, la mayoría de los estudios de micoparasitismo por *Trichoderma* ha sido realizado con pocas especies, como *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. atroviride* y *T. asperellum* (Figura 1).

Los genes relacionados con el micoparasitismo responden transcripcionalmente al fitopatógeno y se han identificado enzimas que degradan la pared celular (Cell Wall Degrading Enzyme - CWDE), como las quitinasas y glucanasas, expresadas en las interacciones de *Trichoderma* spp. con hongos fitopatógenos. *Trichoderma virens* y *T. atroviride* tienen el mayor número de enzimas quitinolíticas (36 y 29, respectivamente) descritas en hongos (Kubicek et al.,

2011). Posiblemente debido a su redundancia, la eliminación de ciertos genes de quitinasa en algunas especies de *Trichoderma* no resultó en la pérdida de sus capacidades micoparasitarias y de biocontrol (Harman et al., 2004). Otro polímero de la pared celular en hongos es el glucano, el cual, dependiendo de su composición, es hidrolizado por  $\beta$ -1,3-,  $\beta$ 1,6- o  $\alpha$ -1,3-glucanasas secretadas por *Trichoderma*, y los genes que codifican  $\beta$ -1,3-glucanasas también están sobrerrepresentadas (18) en los genomas de *T. virens* y *T. atroviride* (Kubicek et al., 2011).

Foto: Rosa Hermosa.



**Figura 1.** Cultivos pareados en placas de *Fusarium oxysporum* (izquierda) y *Trichoderma* spp. (derecha) después de 120 h de crecimiento en medio de Agar papa-dextrosa. T6 = *Trichoderma parareesei*, T7 = *Trichoderma hamatum*, T11 = *Trichoderma atroviride*, T25 = *Trichoderma asperellum*, T34 = *Trichoderma harzianum* y T87 = *Trichoderma virens*; C = testigo

Muchos genes que codifican proteasas y transportadores de oligopéptidos se expresan antes y durante el contacto con el patógeno en diferentes especies de *Trichoderma*. La mayoría de estas proteasas, 33 subtilisinias presentes en *T. virens* y 36 en *T. atroviride*, pertenecen a la familia de las proteasas de serina subtilisina, que aparecen sobrerrepresentadas entre los ETS (*expressed sequence tags*-marcadores de secuencia expresada) de *T. harzianum* obtenidos en condiciones de micoparasitismo simulado (Suárez et al., 2007) y de *T. atroviride* en contacto con *R. solani* y *S. sclerotiorum* (Seidl et al., 2009). La relación directa entre las proteasas y la actividad micoparasitaria fue demostrada al observar un aumento en la capacidad de biocontrol en cepas de *T. atroviride* que sobreexpresaban la subtilisina Prb1 (Flores et al., 1997). Aunque es una actividad menos conocida, las proteasas de *Trichoderma* también pueden realizar su potencial de biocontrol directamente contra nematodos (Suárez et al., 2004).

La diversidad de enzimas que degradan la pared celular (CWDE) con estructuras y propiedades cinéticas tan diferentes (Sanz et al., 2004) permite evitar los sistemas de defensa de los patógenos objetivos. Las enzimas que degradan la pared celular provenientes de diferentes cepas de *Trichoderma* han demostrado su eficacia para inhibir la germinación de esporas, el crecimiento de hifas y el desarrollo de estructuras de resistencia como esclerocios y clamidosporas de un gran número de patógenos, como: *Armillaria*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Monilia*, *Monilinia*, *Nectria*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Pseudoperonospora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Ustilago*, *Venturia*, *Verticillium*, etc.; así como de hongos causantes de la pudrición de la madera e incluso vectores de enfermedades causadas por virus como el protozoario *Polymyxa* (Monte, 2001). Además, como se ha demostrado en el control de *Botrytis*, la aplicación combinada de quitinasas de *T. harzianum* y glucanasas purificadas puede ser tan eficaz como las dosis eficaces de la mayoría de los fungicidas químicos (Monte, 2001).

### **Antibiosis por *Trichoderma***

La producción de metabolitos secundarios por cepas de *Trichoderma* también tiene una gran variedad y potencial de aplicación, ya que, con varios miles de compuestos distribuidos en más de 120 estructuras moleculares, constituyen una de las fuentes de mayor diversidad metabólica en el Reino Fungi (Hermosa et al., 2014). Entre los más estudiados se encuentran los peptaiboles, pequeños péptidos no ribosomales (NRP), poliQUÉTIDOS (PK), terpenos y pironas como la 6-pentil-2H-piran-2-ona (6-PP), responsable del color amarillo y olor a coco de muchos cultivos de *Trichoderma*. Los estudios de genómica comparativa han demostrado que las especies de *Trichoderma* tienen las mayores reservas de grupos de genes relacionados con la biosíntesis de metabolitos secundarios y que *T. atroviride* y *T. virens* albergan más genes para NRP sintetasas y PK sintetasas que cualquier otro hongo filamentoso (Kubicek et al., 2011; Mukherjee et al., 2012).

Se conoce la actividad antifúngica *in vitro* de muchos de los metabolitos secundarios producidos por *Trichoderma* contra *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Stachybotrys*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Gaeumannomyces*, entre otros hongos y *Phytophthora* y *Pythium* (Hermosa et al., 2014). Sin embargo, se han realizado pocas pruebas para determinar la eficacia del biocontrol de una enfermedad de planta por un determinado metabolito en condiciones de campo (Keswani et al., 2014; Li et al., 2014).

Los metabolitos de *Trichoderma* contribuyen con las enzimas degradadoras de la pared celular en su potencial de control. Sin embargo, no parece rentable producir un determinado metabolito para su aplicación directa en un cultivo agrícola. Algunos de los metabolitos son fitotóxicos, como el tricoteceno y la tricodermina, por lo que impide el uso de *T. brevicompactum* como agente de control biológico (Tijerino et al., 2011). Se ha probado la acción insecticida

de algunos metabolitos de *Trichoderma*, solos o combinados con proteasas, contra pulgones (Shakeri; Foster, 2007; Evidente et al., 2009) y la capacidad entomopatógena de la gliotoxina NPR (Vargas et al., 2014). Es interesante destacar el poder disuasorio de algunos metabolitos de *Trichoderma* contra insectos plaga (Sabatini et al., 2012) y la posibilidad de abrir una línea de investigación que explore los efectos de los metabolitos de *Trichoderma* en la atracción de depredadores y parasitoides de estas plagas (Contreras-Cornejo et al., 2018), directamente o induciendo la producción de metabolitos con estos mismos efectos en las plantas. La actividad de los metabolitos de *Trichoderma*, aplicados solos o combinados con microorganismos beneficiosos para las plantas, contribuirá sin duda al desarrollo de una nueva generación de bioestimulantes y bioprotectores más efectivos y ecológicamente amigables que los que se encuentran actualmente en el mercado (Marra et al., 2019).

### **La competencia en *Trichoderma***

La competencia es el comportamiento desigual de dos o más organismos por un mismo requerimiento o recurso, por lo que su uso por uno de ellos reduce la cantidad disponible para los demás. Estos requerimientos o recursos pueden ser nutrientes, oxígeno, espacio físico, luz, etc.

La ubicuidad de *Trichoderma* en suelos naturales y agrícolas, en todas partes del mundo, es una prueba de que es un buen competidor por el espacio y los recursos nutricionales. *Trichoderma* se encuentra en casi todos los suelos y también en hábitats naturales que contienen grandes cantidades de materia orgánica, donde se comporta como un excelente descomponedor de material vegetal y fúngico. Además, muchas especies de *Trichoderma* muestran una gran versatilidad metabólica que les permite crecer utilizando una amplia gama de fuentes de carbono y nitrógeno. Por otro lado, la capacidad de colonizar la rizosfera de las plantas es un punto clave en este proceso, ya que un agente de control biológico que no tiene la capacidad de crecer en la rizosfera no puede competir por espacio y nutrientes.

Las plantas se defienden de los patógenos generando condiciones adversas, como la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS) que dan lugar a un estrés oxidativo que dificulta el acceso de los fitopatógenos a los tejidos de la planta hospedante. Precisamente, una característica que permite a *Trichoderma* competir en la rizosfera es su alta tolerancia al estrés oxidativo. Algunas cepas de *Trichoderma* tienen la particularidad de soportar niveles de ROS que otros hongos no pueden tolerar (Morán-Diez et al., 2010). La síntesis de ROS es uno de los principales eventos que ocurre en las interacciones patógenas en organismos eucariota y las NADPH oxidasas (adenina y dinucleótido fosfato de nicotinamida) están involucradas en la formación de ROS. Los análisis funcionales de un gen que codifica una NADPH oxidasa de *T. harzianum* han demostrado que *Trichoderma* induce en beneficio propio y, como *R. solani*, tolera el estrés oxidativo mejor que otros hongos, ya que favorece el antagonismo frente a

patógenos como *Pythium* (Montero-Barrientos et al., 2011). Por otro lado, en un proyecto de búsqueda de alternativas al bromuro de metilo en cultivos de fresa, encontramos que los primeros colonizadores en suelos fumigados, cuando no obstante tenían un alto potencial redox, fueron cepas de *Trichoderma* que se obtuvieron prácticamente en cultivo puro, debido seguramente su mejor adaptación a un ambiente altamente oxidante.

En su relación simbiótica con plantas, *Trichoderma* implementa mecanismos antioxidantes e induce una disminución de los niveles de ROS en las raíces y en la parte aérea de la planta cuando son perjudiciales para la planta, hecho que conduce a una mejor tolerancia al déficit hídrico y otros tipos de estrés abiótico (Mastouri et al., 2012). Los genomas de *Trichoderma* parecen diseñados para expresar su gran oportunismo. Así, el genoma de *T. virens* tiene un elevado número de genes que codifican transportadores ABC involucrados en los procesos de desintoxicación de compuestos inhibidores producidos por la defensa de la planta. Ruocco et al. (2009) demostraron que la expresión de un gen que codifica un transportador ABC, en *T. atroviride*, es favorecida por metabolitos y micotoxinas producidas por hongos fitopatógenos. Además, con su supresión, demostraron la importancia de la desintoxicación en la acción de *Trichoderma* en el control de *Rhizoctonia* y *Pythium* (Ruocco et al., 2009). La posesión de un tipo de chaperonas, conocidas como proteínas de choque térmico (HSP), también permite a *Trichoderma* sobrevivir en la rizosfera en condiciones edáficas y climáticas muy adversas, tolerando el calor y el frío, estrés oxidativo, osmótico y salino (Montero-Barrientos et al., 2008).

*Trichoderma* puede producir sideróforos que contribuyen con su supervivencia y mejoran su competencia en la rizosfera con bajas concentraciones de hierro (Mukherjee et al., 2012). Además de los sideróforos, pueden solubilizar fosfatos mediante procesos de acidificación, redox, quelación e hidrólisis (Li et al., 2015). Además, se encontró que hubo un aumento en la expresión de genes de *T. reesei* relacionados con la adquisición de nutrientes al entrar en contacto con *R. solani* (Atanasova et al., 2013). Aunque se sabe desde hace mucho tiempo que los casos de competencia son directamente responsables del efecto antagonista de *Trichoderma* (Sivan; Chet, 1989), no es fácil determinar si la competencia por sí sola es suficiente para que *Trichoderma* ejerza su acción antagonista, o si por el contrario, otros mecanismos como la antibiosis o el micoparasitismo preparan las condiciones para que la competencia se lleve a cabo de forma más eficaz. Un método sensible para demostrar la sustitución de un patógeno por un agente de control biológico consiste en el uso de cepas de *Trichoderma* resistentes a un fungicida y cultivos de raíces en medios suplementados con este fungicida, donde solo crecerá la cepa de biocontrol. Sin embargo, no debemos olvidar que una cepa de *Trichoderma* que sea un excelente colonizador de la rizosfera no tiene por qué ser necesariamente un buen agente de control biológico.



## Interacciones entre *Trichoderma* y las plantas

Una característica interesante de *Trichoderma* en comparación con otros agentes de control biológico es su capacidad para promover el crecimiento de las plantas. Hace 35 años, Baker et al. (1984) describieron el mayor peso seco de hojas de rábano cuando fue cultivado en presencia de *Trichoderma*.

Estudios posteriores demostraron que *Trichoderma* aceleró la germinación de semillas de pimentón y provocó el aumento en la altura de plantas de pepino, así como el peso seco de plantas de pimentón, pepino y tomate con aplicación en una concentración superior a  $10^5$  conidios/g de suelo (Chang et al., 1986). Está bien documentado que *Trichoderma* promueve el crecimiento de la parte aérea de las plantas y que produce auxinas y metabolitos como el 6PP que favorecen el desarrollo de las raíces (Vinale et al., 2008; Contreras-Cornejo et al., 2009) y así las raíces son más profundas y vigorosas, proporcionando mayor tolerancia a la sequía (Harman, 2000). *Trichoderma* también aumenta la absorción y solubilización de nutrientes (Yedidia et al., 2001) y favorece la adherencia hidrofóbica y el desarrollo de pelos absorbentes en las raíces laterales, con un consecuente aumento de la superficie de absorción (Samolski et al., 2012).

*Trichoderma* también causa una disminución en los niveles de etileno (ET) en las plantas, mediada por la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa, lo que resulta en un mayor crecimiento de las plantas. Esta enzima degrada el ACC, que es un precursor de ET y se ha demostrado que se expresa durante la interacción de *T. atroviride* con plantas de tomate (Gravel et al., 2007) y de *T. asperellum* con raíces de colza (Viterbo et al., 2010). *Trichoderma* aumenta la masa seca y el contenido de almidón y azúcares solubles en las plantas (Shoresh et al., 2010), el color verde de las hojas (Harman, 2000) y la eficiencia fotosintética (Vargas et al., 2009), esto último está directamente relacionado con la asimilación de nitrógeno (Domínguez et al., 2016).

Los efectos de *Trichoderma* sobre el incremento de los rendimientos en los cultivos han contribuido a la proliferación de formulaciones comerciales que adoptan esta forma de registro más flexible y económica, aprovechando las propiedades de *Trichoderma* como bioinoculante, fitofortificante o acondicionador de plantas (Woo; Pepe, 2018). De esta forma, se evita someterse a las reglas mucho más severas, costosas y lentas que se requieren para registrar a *Trichoderma* como agente de control biológico, es decir, como biopesticida.

Debido principalmente a su preferencia nutricional, *Trichoderma* abunda más en la rizosfera de las plantas que en los suelos no rizosféricos (Druzhinina et al., 2011). Aunque más del 90% de las plantas terrestres están colonizadas por hongos micorrízicos, susceptibles de ser atacados por agentes micotróficos como *Trichoderma*, la realidad es que existen estudios a favor y en contra de la compatibilidad de *Trichoderma* con micorrizas arbusculares.

En estudios *in vivo*, se han demostrado efectos positivos para plantas con la asociación de micorrizas y *Trichoderma* (Chandanie et al., 2009; Buysens et al., 2016). Las micorrizas pueden incluso servir como una vía de entrada para *Trichoderma* en las raíces (De Jaeger et al., 2010), lo que sugiere que la micotrofia ha contribuido a la evolución de *Trichoderma* al endofitismo. Pocas especies de *Trichoderma* son verdaderamente endofíticas, siendo muchas más numerosas las que se comportan como endófitas facultativas (Bae et al., 2009).

La colonización es un proceso que implica el reconocimiento y la adherencia a las raíces, la penetración en la planta y la resistencia al estrés oxidativo y nitrosativo y a las enzimas y metabolitos tóxicos producidos por la planta en respuesta a la invasión, incluso degradando activamente los compuestos fenólicos de los exudados de las raíces (Chen et al., 2011) o suprimiendo la biosíntesis de fitoalexinas (Masunaka et al., 2011). En *Trichoderma*, el proceso de adherencia a la superficie de la raíz puede estar mediado por pequeñas proteínas hidrofóbicas en la superficie externa de la pared celular (hidrofobinas) y por proteínas del tipo expansina capaces de reconocer la celulosa y modificar la arquitectura de la raíz de la planta (Mendoza-Mendoza et al., 2018).

El establecimiento de *Trichoderma* en los tejidos de la raíz puede ser favorecido por actividades enzimáticas de tipo hemicelulasa y poligalacturonasa, esta última requerida por *T. harzianum* para la colonización activa de la raíz y la inducción de las defensas de la planta frente al ataque de un patógeno necrotrofico como *Botrytis cinerea* (Morán -Diez et al., 2009). Una vez que la raíz ha sido colonizada, el crecimiento de *Trichoderma* se restringe a los espacios intercelulares de la corteza y la epidermis ya que la aposición de calosa en la pared celular impide el acceso de *Trichoderma* a los tejidos vasculares (Yedidia et al., 1999). Diferentes especies de *Trichoderma* pueden colonizar las raíces de muchas plantas e incluso vivir como endófito, no solo sin causar daño sino protegiendo las plantas contra patógenos y estreses ambientales y aumentando el rendimiento de los cultivos en diferentes sistemas de producción (Druzhinina et al., 2011; Carrero - Carrón et al., 2018). El potencial de biocontrol de *Trichoderma* también se puede extender a las malezas, ya que puede actuar como barrera fisiológica para evitar la germinación de sus semillas, suprimiendo señales que estimulan el desarrollo de malezas, como ocurre con la degradación de las estrigolactonas (Boari et al., 2016).

La comunicación entre *Trichoderma* y las plantas modula los procesos de señalización mediados por fitohormonas (Hermosa et al., 2012). Durante el proceso de colonización de la raíz, una hormona clave para fortalecer las paredes celulares es el ácido salicílico (SA), que restringe a *Trichoderma* al apoplasto (espacio extracelular formado por las paredes celulares y los espacios entre las células por donde circula el agua y los solutos), evitando así su llegada al sistema vascular. La función principal del ácido salicílico en la colonización por *Trichoderma* se ha demostrado con mutantes de *Arabidopsis* incapaces de sintetizar ácido salicílico, ya que

las plantas que carecen de esta fitohormona no acumulan calosa y permiten la diseminación de *Trichoderma* a las partes aéreas a través del tejido vascular, con el posterior colapso de la planta (Alonso-Ramírez et al., 2014).

### ***Trichoderma* y la inducción de defensas en la planta**

La enorme variedad de plantas hospedantes de *Trichoderma* sugiere que no existe una adaptación específica del hongo a un tipo particular de planta, aunque la comparación de los transcriptomas de la cepa *Trichoderma virens* Gv29-8 en tomates y maíz sugiere que el comportamiento del hongo está condicionado por cada planta hospedante (Morán-Díez et al., 2015). También se sabe que los efectos positivos de *Trichoderma* son extensibles a muchas especies vegetales, por lo que también se puede pensar que, en la comunicación molecular con la planta, *Trichoderma* es quien marca el patrón de comportamiento, que podría denominarse el “efecto *Trichoderma*”, cuyos mecanismos comienzan a entenderse (Hermosa et al., 2012, 2013).

*Trichoderma* estimula sistémicamente las defensas de la planta frente al ataque de patógenos y condiciones edáficas y ambientales adversas, sin necesidad de establecer contacto directo con el invasor ni estar sometida a estrés previo. Los patógenos atacantes más comunes controlados sistémicamente por el efecto *Trichoderma* son hongos filamentosos, oomicetos y bacterias (Shoresh et al., 2010), aunque las defensas contra nematodos (Medeiros et al., 2017), insectos (Coppola et al., 2017) y virus (Elsharkawy et al., 2013) pueden ser activadas. Por lo tanto, las plantas no perciben a *Trichoderma* como un enemigo. Sin embargo, para alcanzar la condición de “amigo” de las plantas, *Trichoderma* tuvo que desarrollar sus habilidades oportunistas, aprovechar los exudados radiculares (Vargas et al., 2009) y superar las respuestas defensivas iniciales de las plantas (Morán-Díez et al., 2012).

Las plantas son capaces de presentar respuestas inmunitarias muy específicas y mantener una memoria permanente al ataque de patógenos. La primera línea de defensa activa se conoce como una respuesta inmune innata, que comienza a funcionar cuando las moléculas atacantes, conocidas como patrones moleculares asociados con microorganismos (*microbe associated molecular patterns* - MAMP), que son evolutivamente muy conservados (betaglucanos y quitina de la pared celular de los hongos, la flagelina y el péptidoglucano de las bacterias, etc.), son detectados por receptores denominados receptores de reconocimiento de patrones (*pattern recognition receptors* - PRR), que se encuentran en la membrana celular de cada célula vegetal. Del mismo modo, los PRR también responden a las moléculas liberadas por la acción hidrolítica de los atacantes sobre los tejidos vegetales (ejemplos: oligómeros de la pared celular y restos de cutículas), que se conocen como patrones moleculares asociados al daño (*damage-associated molecular patterns* - DAMP).

Cuando se estimula un PRR, se genera una cascada de transducción de señales que da lugar a una respuesta inmune conocida como inmunidad activada por MAMP (MAMP-triggered immunity - MTI). Como resultado, las paredes celulares de la planta se fortalecen con la deposición de calosa y lignina; la producción de metabolitos secundarios con acción antimicrobiana como las fitoalexinas; la acumulación de proteínas de defensa, conocidas como proteínas relacionadas con la patogénesis (*pathogenesis-related* - PR), incluidas las quitinasas y glucanasas que hidrolizan la pared celular de hongos y oomicetos potencialmente invasores; y la acumulación de fitohormonas como el ácido salicílico, etileno y ácido jasmónico (JA), considerados los principales protagonistas de la respuesta inmune, cuya señal se transmite sistémicamente a través de las células vecinas. La cantidad, composición y momento en que la mezcla de fitohormonas producidas en las células vegetales varía de una planta a otra y depende de su estilo de vida y de la estrategia utilizada por los atacantes (Pieterse et al., 2009). En el caso de *Trichoderma*, la respuesta inmune, medida por estas fitohormonas, depende de la cepa, su concentración, la duración de la interacción y el estado de desarrollo y órgano de la planta (Segarra et al., 2007).

Los patógenos que causan daño a las plantas son aquellos que han evolucionado para suprimir la defensa MTI. Liberan una serie de moléculas, conocidas como “efectoras”, que modulan la respuesta inmune innata y permiten la infección o colonización endofítica (Lo Presti et al., 2015). Los genes que codifican las moléculas efectoras obedecen a distintos patrones evolutivos y muestran la coevolución del patógeno con su respectivo hospedante (Franceschetti et al., 2017). Las proteínas efectoras se secretan en el apoplasto o citoplasma de la célula hospedante. Los efectores también pueden translocarse al núcleo celular, lo que sugiere que pueden manipular la transcripción en la célula hospedante o unirse directamente a componentes esenciales del núcleo en beneficio del atacante que los ha liberado (Rivas; Genin, 2011). Se han clonado y caracterizado más de 80 proteínas efectoras en hongos y oomicetos fitopatógenos (Selin et al., 2016).

A su vez, las plantas también han evolucionado adquiriendo la capacidad de reconocer a las moléculas efectoras a través de proteínas de resistencia citoplasmática que contienen repeticiones ricas en leucina (LRR) y sitios de unión a nucleótidos (NBS), dando lugar a una respuesta inmune adaptada (específica) conocida como inmunidad activada por efectores (*effector-triggered immunity* - ETI). La coevolución entre atacantes y plantas ha generado colecciones de efectores microbianos intracelulares y proteínas NBS-LRR (también llamadas NLR) que los reconocen. Por lo tanto, varios NLR están sobrerrepresentados en el proteoma de la hoja del tomate en interacción con *Trichoderma atroviride* (Marra et al., 2006). Por otro lado, se ha propuesto que los receptores PRR, además de reconocer los MAMP, también pueden ser activados por la acción de efectores liberados en el apoplasto (Win et al., 2012).

La defensa contra colonizadores apoplásicos, como es el caso de *Trichoderma*, es de tipo ETI (porque es inducida por efectores), sin embargo, también es de tipo MTI (ya que, al igual que los MAMP, estos efectores son reconocidos por los receptores PRR de la superficie celular).

La defensa ETI con frecuencia se asocia con el desarrollo de una respuesta temprana, que genera estrés oxidativo y una respuesta de hipersensibilidad (HR), una muerte celular programada, ubicada en el sitio de infección, que evita la propagación del patógeno dentro de la planta. El hecho de que algunas cepas de *Trichoderma* resistan mejor el estrés oxidativo que otros hongos del suelo les confiere una ventaja en la rizosfera de las plantas, donde se produce la liberación de especies reactivas de oxígeno como consecuencia de la ETI. En la mayoría de los casos, la aparición de hipersensibilidad implica la activación de defensas dependientes del ácido salicílico, que se conocen como resistencia sistémica adquirida (SAR), y en el caso particular de *Trichoderma*, se requiere ácido salicílico para limitar su presencia en el apoplasto de la epidermis y córtex, impidiendo que llegue a los haces vasculares (Alonso-Ramírez et al., 2014).

Las fitohormonas, ácido jasmónico y etileno, también son importantes reguladores del sistema inmune de las plantas, activando lo que se conoce como resistencia sistémica inducida (ISR), que está especialmente relacionada con la defensa que presentan las plantas frente a patógenos necrotróficos, microorganismos benéficos e insectos herbívoros (Pieterse et al., 2014). *Trichoderma* supera la defensa dependiente del ácido salicílico aumentando las respuestas sensibles al ácido jasmónico/etileno y auxina, que actúan como antagonistas del ácido salicílico (Brotman et al., 2013). Esta afirmación está respaldada por la fuerte subregulación de genes relacionados con la respuesta al ácido salicílico observada después de 4 h de la inoculación de *T. harzianum* en plantas de *Arabidopsis*, seguida de un aumento en la expresión de genes marcadores de la respuesta al ácido salicílico y la sobregulación de genes relacionados con las respuestas dependientes del ácido abscísico (ABA) después de 48 h. Todo indica que *Trichoderma* tiene que hacer frente a las defensas de la planta desde los primeros momentos de la interacción, cuando la respuesta SAR inicial (resistencia sistémica adquirida) aún no ha alcanzado su máxima intensidad, permitiendo así la colonización de la epidermis y córtex y que la subregulación de genes relacionados con la respuesta al ácido salicílico sería suficiente para evitar la diseminación indiscriminada del hongo en la raíz.

La capacidad de activar de forma independiente la respuesta de ISR (resistencia sistémica inducida) al ácido salicílico es una característica común de los microorganismos benéficos (Pieterse et al., 2014) que se observó por primera vez en *T. asperellum* colonizando las raíces de pepino, donde fue detectada la ISR (resistencia sistémica inducida) dependiente de JA/ET (ácido jasmónico/etileno) en la parte aérea de la planta en menos de 48 h (Shoresh et al., 2005). Sin embargo, existen estudios que demuestran que el ácido salicílico actúa como regulador de

la defensa ISR (resistencia sistémica inducida) activada por *Trichoderma* (Morán-Diez et al., 2009; Salas-Marina et al., 2011; Mathys et al., 2012; Martínez-Medina et al., 2013). También se ha observado que *Trichoderma* regula los niveles de etileno endógeno en la planta (Viterbo et al., 2010) y que también produce las fitohormonas: auxina (Contreras-Cornejo et al., 2009) y ácido salicílico (Pérez et al., 2015), que afectan el crecimiento y las defensas de las plantas.

Se ha propuesto un modelo explicativo de la comunicación molecular entre *Trichoderma* y las plantas. En este modelo, en el que según el momento y el resultado del estímulo provocado por *Trichoderma*, la homeostasis fitohormonal (con ácido salicílico, ácido jasmónico, etileno, ácido abscísico, giberelinas y auxinas como actores principales) controla a su vez el desarrollo y las defensas de la planta (Hermosa et al., 2012). Este modelo ayudaría a comprender los mecanismos por los que *Trichoderma* contribuye a aumentar la capacidad de crecimiento de las plantas, la resistencia a enfermedades y la tolerancia a los estreses abióticos. Sin embargo, la comunicación entre *Trichoderma* y las plantas es dinámica y la expresión de los genes que determinan las respuestas SAR (resistencia sistémica adquirida) e ISR (resistencia sistémica inducida) se superpone de manera ondulatoria, coincidiendo con la capacidad de crecimiento de *Trichoderma* dentro y fuera de las raíces, provocando una respuesta sistémica que la planta es capaz de recordar en presencia de estreses bióticos y abióticos (Rubio et al., 2014). Con el tiempo, los cambios provocados por *Trichoderma* en el transcriptoma de la planta se ralentizan o, lo que es lo mismo, la frecuencia y amplitud de la respuesta de la onda se prolonga durante varias semanas hasta que desaparece. Así, hemos comprobado que solo unos pocos genes del tomate, relacionados con el metabolismo y la defensa, modificaron su perfil de expresión después de tres semanas de la aplicación de *T. harzianum* a las raíces (Dominguez et al., 2016).

La inducción de defensas sistémicas contra el estrés ambiental es posiblemente la característica menos estudiada en *Trichoderma*. Recientemente, observamos que la aplicación de fertilizante nitrogenado junto con dosis adecuadas de *T. harzianum* tienen un efecto sinérgico, sin embargo, se produce un decaimiento de las plantas de tomate si se aplican juntas bajo ciertas condiciones de estrés salino (Rubio et al., 2017). La relevancia de estos resultados es que se describe que la súper estimulación de la planta por doble fertilización con *Trichoderma* y fertilizantes nitrogenados, en condiciones subóptimas para la planta, da lugar a un desequilibrio fitohormonal que provoca cambios fenotípicos indeseables. Por tanto, independientemente de su uso como agente de control biológico o como bioestimulante, será de vital importancia ajustar las dosis de *Trichoderma* aplicadas a cada planta, según las condiciones de cada cultivo.

En un estudio realizado entre Brasil y España, en la Universidad de Salamanca, se observó que las plantas de tomate inoculadas con *Trichoderma* e infectadas con el nematodo agallador *Meloidogyne javanica* expresan genes de defensa sistémica de manera ondulatoria, los

cuales son dependientes del ácido salicílico o ácido jasmónico, según el estadio de ciclo infectivo del nematodo (Medeiros et al., 2017). En este mismo estudio, también se comprobó que la descendencia de plantas de tomate sometidas al “efecto *Trichoderma*” hereda de sus padres la resistencia a patógenos y promoción del crecimiento (Medeiros et al., 2017). El resultado final es indicativo de que *Trichoderma* reprograma las células del tomate, que pueden provocar cambios epigenéticos en los nodos que regulan las respuestas transgeneracionales de defensa y crecimiento de las plantas.

## Consideraciones finales

*Trichoderma* es un hongo oportunista que tiene la capacidad de colonizar variados sustratos en condiciones ambientales muy diferentes, tiene la mayor cantidad de enzimas hidrolíticas que se encuentran en el Reino Fungi y también tiene un sistema de reparación celular muy poderoso que le permite crecer en condiciones adversas. El aprovechamiento de la capacidad de *Trichoderma* para atacar otros hongos ha permitido el desarrollo de numerosos agentes de control biológico con demostrada eficacia en diferentes sistemas productivos. En los últimos años, son cada vez más frecuentes los estudios que describen que *Trichoderma* promueve el crecimiento de las plantas y la germinación de las semillas, lo que estimula sistemáticamente las defensas de las plantas contra los patógenos y también contra los estreses ambientales. Todo esto constituye lo que se puede llamar el “efecto *Trichoderma*”. Como resultado de la comunicación entre *Trichoderma* y las plantas entran en juego diferentes sistemas de regulación genética que hacen que la planta responda a este efecto, creciendo más y mejor, adaptándose a condiciones de cultivo subóptimas o defendiéndose mediante mecanismos de resistencia sistémica. La explotación eficiente de las capacidades de biocontrol y bioestimulación de *Trichoderma* dependerá de nuestra capacidad para seleccionar las mejores cepas y establecer las mejores condiciones de uso. Finalmente, el “efecto *Trichoderma*” es susceptible de ser heredado, lo que abre un enorme abanico de posibilidades de aplicación de este hongo en la producción de semillas y plántulas.

## Referencias

- ALONSO-RAMÍREZ, A.; POVEDA, J.; MARTÍN, I.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; NICOLÁS, C. Salicylic acid prevents *Trichoderma barzilianum* from entering the vascular system of roots. **Molecular Plant Pathology**, v. 15, n. 8, p. 823-831, 2014.
- ATANASOVA, L. Ecophysiology of *Trichoderma* and *Glucadium* in genome perspective. In: GUPTA, V. S.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I., TUOHY, M. (Ed.). **Biotechnology and biology of *Trichoderma***. Boston: Elsevier, 2014. p. 25-40.
- ATANASOVA, L.; LE CROM, S.; GRUBER, S.; COULPIER, F.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. **BMC Genomics**, v. 14, p. 121, 2013.
- BAE, H.; SICHER, R. C.; KIM, M. S.; KIM, S-H.; STREM, M. D.; MELNICK, R. L.; BAILEY, B. A. The beneficial endophyte *Trichoderma bamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 11, p. 3279-3295, 2009.



- BAKER, R.; ELAD, Y.; CHET, I. The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. **Phytopathology**, v. 74, n. 9, p. 1019-1021, 1984.
- BOARI, A.; CIASCA, B.; PINEDA-MARTOS, R.; LATTANZIO, V. M.; YONEYAMA, K.; VURRO, M. Parasitic weed management by using strigolactones-degrading fungi. **Pest Management Science**, v. 72, n. 11, p. 2043-2047, 2016.
- BROTMAN, Y.; LANDAU, U.; CUADROS-INOSTROZA, A.; TAKAYUKI, T.; FERNIE, A. R.; CHET, I.; VITERBO, A.; WILLMITZER, L. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. **PLoS Pathogens**, v. 9, e1003221, 2013.
- BUYSENS, C.; CÉSAR, V.; FERRAIS, F.; DE BOULOIS, H. D.; DECLERCK, S. Inoculation of *Medicago sativa* cover crop with *Rhizopagus irregularis* and *Trichoderma harzianum* increases the yield of subsequently-grown potato under low nutrient conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 105, p. 137-143, 2016.
- CARRERO-CARRÓN, I.; RUBIO, M. B.; NIÑO-SÁNCHEZ, J.; NAVAS, J. A.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M.; MONTE, E.; HERMOSA, R. Interactions between *Trichoderma harzianum* and defoliating *Verticillium dahliae* in resistant and susceptible wild olive clones. **Plant Pathology**, v. 67, n. 8, p. 1758-1767, 2018.
- CHANDANIE, W. A.; KUBOTA, M.; HYAKUMACHI, M. Interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and plant growth-promoting fungi and their significance for enhancing plant growth and suppressing damping-off of cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Applied Soil Ecology**, v. 41, n. 3, p. 336-341, 2009.
- CHANG, Y.; CHANG, Y.; BAKER, R.; KLEIFELD, O.; CHET, I. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, v. 70, n. 2, p. 145-148, 1986.
- CHEN, L.; YANG, X.; RAZA, W.; LI, J.; LIU, Y.; QIU, M.; ZHANG, F.; SHEN, Q. *Trichoderma harzianum* SQR-T037 rapidly degrades allelochemicals in rhizospheres of continuously cropped cucumbers. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, n. 5, p. 1653-1663, 2011.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; DEL-VAL, E.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; ALARCÓN, A.; GONZÁLEZ-ESQUIVEL, C. E.; LARSEN, J. *Trichoderma atroviride*, a maize root associated fungus, increases the parasitism rate of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* by its natural enemy *Campoplex sonorensis*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 122, p. 196-202, 2018.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PANGO, C.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 149, n. 3, p. 1579-1592, 2009.
- COPPOLA, M.; CASCONI, P.; CHIUSANO, M. L.; COLANTUONO, C.; LORITO, M.; PENNACCHIO, F.; RAO, R.; WOO, S. L.; GUERRIERI, E.; DIGLIJO, M. C. *Trichoderma harzianum* enhances tomato indirect defense against aphids. **Insect Science**, v. 24, n. 6, p. 1025-1033, 2017.
- DE JAEGER, N.; DECLERCK, S.; DE LA PROVIDENCIA I. E. Mycoparasitism of arbuscular mycorrhizal fungi: a pathway for the entry of saprotrophic fungi into roots. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 73, n. 2, p. 312-322, 2010.
- DOMÍNGUEZ, S.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; NICOLÁS, C.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Nitrogen metabolism and growth enhancement in tomato plants challenged with *Trichoderma harzianum* expressing the *Aspergillus nidulans* acetamidase *amdS* gene. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1182, 2016.
- DRUZHININA, I. S.; CHENTHAMARA, K.; ZHANG, J.; ATANASOVA, L.; YANG, D.; MIAO, Y.; RAHIMI, M. J.; GRUJIC, M.; CAI, F.; POURMEHDI, S.; SALIM, K. A.; PRETZER, C.; KOPCHINSKY, A. G.; HENRISSAT, B.; KUO, A.; HUNDLEY, H.; WANG, M.; AERTS, A.; SALAMOV, A.; LIPZEN, A.; LABUTTI, K.; BARRY, K.; GRIGORIEV, I. V.; SHENG, Q.; KUBICEK, C. P. Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall-degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts. **PLoS Genetics**, v. 14, n. 4, e1007322, 2018.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHER-JEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Natural Reviews. Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749-759, 2011.
- ELSHARKAWY, M. M.; SHIMIZU, M.; TAKAHASHI, H.; OZAKI, K.; HYAKUMACHI, M. Induction of systemic resistance against cucumber mosaic virus in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma asperillum* SKT-1. **Plant Pathology Journal**, v. 29, n. 2, p. 193-200, 2013.
- EVIDENTE, A.; ANDOLFI, A.; CIMMINO, A.; GANASSI, S.; ALTOMARE, C.; FAVILLA, M.; DE CRISTOFARO, A.; VITAGLIANO, S.; SABATINI, M. A. Bisorbicillinoids produced by the fungus *Trichoderma citrinoviride* affect feeding preference of the aphid *Schizaphis graminum*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 5, p. 533-541, 2009.



- FLORES, A.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A. Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over-expression of the proteinase-encoding gene *prb1*. **Current Genetics**, v. 31, n. 1, p. 30-37, 1997.
- FRANCESCETTI, M.; MAQBOOL, A.; JIMENEZ-DALMARONI, M. J.; PENNINGTON, H. G.; KAMOUN, S.; BANFIELD, M. J. Effectors of filamentous plant pathogens: commonalities amid diversity. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 81, n. 2, e00066-16, 2017.
- GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDELLE, R. J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 8, p. 1968-1977, 2007.
- HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, p. 377-393, 2000.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. (Ed.). **Biotechnology and Biology of Trichoderma**. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 125-137.
- HERMOSA, R.; GRONDONA, I.; ITUARRIAGA, E.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J.; CASTRO, C.; MONTE, E.; GARCÍA-ACHA, I. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 5, p. 1890-1898, 2000.
- HERMOSA, R.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 69-80, 2013.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, p. 17-25, 2012.
- KESWANI, C.; MISHRA, S.; SARMA, B. K.; SINGH, S. P.; SIGH, H. B. Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 98, p. 533-544, 2014.
- KUBICEK, C. P.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SEIDL-SEIBOTH, V.; MARTINEZ, D. A.; DRUZHININA, I. S.; THON, M.; ZEILINGER, S.; CASAS-FLORES, S.; HORWITZ, B. A.; MUKHERJEE, P. K.; MUKHERJEE, M.; KREDICS, L.; ALCARAZ, L. D.; AERTS, A.; AN-TAL, S.; ATANASOVA, L.; CERVANTES-BADILLO, M. G.; CHALLACOMBE, J.; CHERTKOV, O.; MCCLUSKEY, K.; COULPIER, F.; DESHPANDE, N.; HANS VON DÖHREN, H. von; EBBOLE, D. J.; ESQUIVEL-NARANJO, E. U.; FEKETE, E.; FLIPPHI, M.; GLASER, F.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, E. Y.; GRUBER, S.; HAN, C.; HENRISSAT, B.; HERMOSA, R.; HERNÁNDEZ-ONATE, M.; KARAFFA, L.; KOSTI, I.; LE CROM, S.; LINDQUIST, E.; LUCAS, S.; LÜBECK, M.; LÜBECK, P. S.; MARGEOT, A.; METZ, B.; MISRA, M.; NEVALAI-NEN, E.; OMANN, M.; PACKER, N.; PERRONE, G.; URESTI-RIVERA, E. E.; SALAMOV, A.; SCHMOLL, S.; SEIBOTH, B.; SHAPIRO, H.; SUKNO, S.; TAMAYO-RAMOS, J. A.; TISCH, D.; WIEST, A.; WILKINSON, H. H.; ZHANG, M.; COUTINHO, P. M.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; BAKER, S. E.; GRIGORIEV, I. V. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, R40, 2011.
- LI, R. X.; CAI, F.; PANG, G.; SHEN, Q. R.; LI, R.; CHEN, W. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. **PLoS One**, v. 10, n. 6, e0130081, 2015.
- LI, H. Y.; LUO, Y.; ZHANG, X. Z.; SHI, W. L.; GONG, Z. T.; SHI, M.; CHEN, L. L.; CHEN, X. L.; ZHANG, Y. Z.; SONG, X. Y. Trichokonins from *Trichoderma pseudokoningii* SMF2 induce resistance against gram-negative *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Chinese cabbage. **FEMS Microbiology Letters**, v. 354, n. 1, p. 75-82, 2014.
- LO PRESTI, L.; LANVER, D.; SCHWEIZER, G.; TANAKA, S.; LIANG, L.; TOLLOT, M.; ZUCCARO, A.; REISSMANN, S.; KAHMANN, R. Fungal effectors and plant susceptibility. **Annual Review of Plant Biology**, v. 66, p. 513-545, 2015.
- MARRA, R.; AMBROSINO, P.; CARBONE, V.; VINALE, F.; WOO, S. L.; RUOCCO, M.; CILIENTO, R.; LANZUISE, S.; FERRAIOLI, S.; SORIENTE, I.; GIGANTE, S.; TURRA, D.; FOGLIANO, V.; SCALA, F.; LORITO, M. Study of the three-way interaction between *Trichoderma atroviride*, plant and fungal pathogens by using a proteomic approach. **Current Genetics**, v. 50, n. 5, p. 307-321, 2006.
- MARRA, R.; LOMBARDI, N.; D'ERRICO, G.; TROISI, J.; SCALA, G.; VINALE, F.; WOO, S. L.; BONANOMI, G.; LORITO, M. Application of *Trichoderma* strains and metabolites enhances soybean productivity and nutrient content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1814-1822, 2019.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; FERNÁNDEZ, I.; SÁNCHEZ-GUZMÁN, M. J.; JUNG, S. C.; PASCUAL, J. A.; POZO, M. J. Deciphering the hormonal signaling network behind the systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* in tomato. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, article 206, 2013.

- MASTOURI, F.; BJÖRKMANN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012.
- MASUNAKA, A.; HYAKUMACHI, M.; TAKENAKA, S. Plant growth-promoting fungus, *Trichoderma koningii* suppresses isoflavonoid phytoalexin vestitol production for colonization on/in the roots of *Lotus japonicus*. **Microbes and Environments**, v. 26, n. 2, p. 128-134, 2011.
- MATHYS, J.; DE CREMER, K.; TIMMERMANS, P.; VAN KERCKHOVE, S.; LIEVENS, B.; VANHAECKE, M.; CAMMUE, B. P.; DE CONINCK, B. Genome-wide characterization of ISR induced in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma hamatum* T382 against *Botrytis cinerea* infection. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, p. 108, 2012.
- MEDEIROS, H. A.; ARAUJO FILHO, J. V.; FREITAS, L. G.; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. **Scientific Reports**, v. 7, article 40216, 2017.
- MENDOZA-MENDOZA, A.; ZAID, R.; LAWRY, R.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; HORWITZ, B.; MUKHERJEE, P. K. Molecular dialogue between *Trichoderma* and roots. Role of the fungal secretome. **Fungal Biology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 62-85, 2018.
- MONTE, E. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. **International Microbiology**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2001.
- MONTERO-BARRIENTOS, M.; HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Functional analysis of the *Trichoderma harzianum* *nox1* gene, encoding an NADPH oxidase, relates production of reactive oxygen species to specific biocontrol activity against *Pythium ultimum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 9, p. 3009-3016, 2011.
- MONTERO-BARRIENTOS, M.; HERMOSA, R.; NICOLÁS, C.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Overexpression of a *Trichoderma HSP70* gene increases fungal resistance to heat and other abiotic stresses. **Fungal Genetics and Biology**, v. 45, n. 11, p. 1506-1513, 2008.
- MORÁN-DIEZ, E.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E.; HERMOSA, R. TvDim1 of *Trichoderma virens* is involved in redox-processes and confers resistance to oxidative stresses. **Current Genetics**, v. 56, n. 1, p. 63-73, 2010.
- MORÁN-DIEZ, E.; HERMOSA, M. R.; AMBROSIO, P.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; LORITO, M.; MONTE, E. The ThPG1 endopolygalacturonase is required for the *Trichoderma harzianum*-plant beneficial interaction. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 8, p. 1021-1031, 2009.
- MORÁN-DIEZ, E.; RUBIO, B.; DOMÍNGUEZ, S.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; NICOLÁS, C. Transcriptomic response of *Arabidopsis thaliana* after 24 h incubation with the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, n. 6, p. 614-620, 2012.
- MORÁN-DIEZ, M. E.; TRUSHINA, N.; LAMDAN, N. L.; ROSENFELDER, L.; MUKHERJEE, P. K.; KENERLEY, C. M.; HORWITZ, B. A. Host specific transcriptomic pattern of *Trichoderma virens* during interaction with maize or tomato roots. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 8, 2015.
- MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M. Secondary metabolism in *Trichoderma* – a genomic perspective. **Microbiology**, n. 158, n. 1, p. 35-45, 2012.
- PÉREZ, E.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; BETTIOL, W.; MONTE, E.; HERMOSA, R. The importance of chorismate mutase in the biocontrol potential of *Trichoderma parareesei*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, article 1181, 2015.
- PIETERSE, C. M.; LEÓN-REYES, A.; ENT, S. V. D.; WEES, S. C. VAN. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. **Nature Chemical Biology**, v. 5, p. 308-316, 2009.
- PIETERSE, C. M.; ZAMILOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; WELLER, D. M.; WEES, S. C. van; BAKKER, P. A. Induced systemic resistance by beneficial microbes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, p. 347-375, 2014.
- RIVAS, S.; GENIN, S. A plethora of virulence strategies hidden behind nuclear targeting of microbial effectors. **Frontiers in Plant Science**, v. 2, p. 104, 2011.
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, M. R.; KECK, E.; MONTE, E. Specific PCR assays for the detection and quantification of DNA from the biocontrol strain *Trichoderma harzianum* 2413 in soil. **Microbial Ecology**, v. 49, n. 1, p. 25-33, 2005.
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; VICENTE, R.; GÓMEZ-ACOSTA, F. A.; MORCUENDE, R.; MONTE, E.; BETTIOL, W. The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 294, 2017.
- RUBIO, M. B.; QUIJADA, N. M.; PÉREZ, E.; DOMÍNGUEZ, S.; MONTE, E.; HERMOSA, R. Identifying beneficial qualities of *Trichoderma parareesei* for plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 6, p. 1864-1873, 2014.

- RUOCCO, M.; LANZUISE, S.; VINALE, F.; MARRA, R.; TURRÀ, D.; WOO, S. L.; LORITO, M. Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride* the role of an ABC transporter membrane pump in the interaction with different plant-pathogenic fungi. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 3, p. 291-301, 2009.
- SABATINI, M. A.; GANASSI, S.; ALTOMARE, C.; FAVILLA, M.; EVIDENTE, A.; ANDOLFI, A. **Phagodeterrent compounds of fungal origin**. EP 2706846 A1, US 20140228448 A1, WO 2012153314 A1, 14 May 2012, 15 nov. 2012.
- SALAS-MARINA, M. A.; SILVA-FLORES, M. A.; URESTI-RIVERA, E. E.; CASTRO-LONGORIA, E.; HERRERA-ESTRELLA, A.; CASAS-FLORES, S. Colonization of Arabidopsis roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, n. 1, p. 15-26, 2011.
- SAMOLSKI, I.; RINCÓN, A. M.; PINZÓN, L. M.; VITERBO, A.; MONTE, E. The *qit74* gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 129-138, 2012.
- SANZ, L.; MONTERO, M.; GRONDONA, I.; VIZCAÍNO, J. A.; LLOBELL, A.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Cell wall-degrading isoenzyme profiles of *Trichoderma* biocontrol strains show correlation with rDNA taxonomic species. **Current Genetics**, v. 46, n. 5, p. 277-286, 2004.
- SEGARRA, G.; CASANOVA, E.; BELLIDO, D.; ODENA, M. A.; OLIVEIRA, E.; TRILLAS, I. Proteome, salicylic acid, and jasmonic acid changes in cucumber plants inoculated with *Trichoderma asperellum* strain T34. **Proteomics**, v. 7, n. 21, p. 3943-3952, 2007.
- SEIDL, V.; SEIBEL, C.; KUBICEK, C. P.; SCHMOLL, M. Sexual development in the industrial workhorse *Trichoderma reesei*. **Proceedings of the National Academy of Science of United States of America**, v. 106, n. 33, p. 13909-13914, 2009.
- SELIN, C.; DE KIEVIT, T. R.; BELMONTE, M. F.; FERNANDO, W. G. Elucidating the role of effectors in plant-fungal interactions: progress and challenges. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 600, 2016.
- SHAKERI, J.; FOSTER, H. A. Proteolytic activity and antibiotic production by *Trichoderma harzianum* in relation to pathogenicity to insects. **Enzyme And Microbial Technology**, v. 40, n. 4, p. 961-968, 2007.
- SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 21-43, 2010.
- SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of the jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005.
- SIVAN, A.; CHET, I. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* of rhizosphere colonization. **Phytopathology**, v. 79, n. 2, p. 198-203, 1989.
- SUÁREZ, B.; REY, M.; CASTILLO, P.; MONTE, E.; LLOBELL, A. Isolation and characterization of PRA1, a trypsin-like protease from the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematocidal activity. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, n. 1, p. 46-55, 2004.
- SUÁREZ, M. B.; VIZCAÍNO, J. A.; LLOBELL, A.; MONTE, E. Characterization of genes encoding novel peptidases in the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* CECT 2413 using the *TrichoEST* functional genomics approach. **Current Genetics**, v. 51, n. 5, p. 331- 342, 2007.
- TIJERINO, A.; HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; MORAGA, J.; MALMIERCA, M. G.; ALEU, J.; COLLADO, I. G.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. Overexpression of the *Trichoderma brevicompactum tri5* gene: effect on the expression of the trichodermin biosynthetic genes and on tomato seedlings. **Toxins**, v. 3, n. 9, p. 1220-1232, 2011.
- VARGAS, W. A.; MANDAWÉ, J. C.; KENERLEY, C. M. Plant-derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plants. **Plant Physiology**, v. 151, n. 2, p. 792-808, 2009.
- VARGAS, W. A.; MUKHERJEE, P. K.; LAUGHLIN, D.; WIEST, A.; MORÁN-DIEZ, M. E.; KENERLEY, C. M. Role of gliotoxin in the symbiotic and pathogenic interactions of *Trichoderma virens*. **Microbiology**, v. 160, p. 2319-2330, 2014.
- 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**, v. 72, n. 1-3, p. 80-86, 2008.
- VITERBO, A.; LANDAU, U.; KIM, S.; CHERNIN, L.; CHET, I. Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203. **FEMS Microbiology Letters**, v. 305, n. 1, p. 42-48, 2010.
- WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, v. 22, p. 837-845, 1932.

WEINDLING, R. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. **Phytopathology**, v. 24, p. 1153-1179, 1934.

WIN, J.; CHAPARRO-GARCIA, A.; BELHAJ, K.; SAUNDERS, D. G.; YOSHIDA, K.; DONG, S.; SCHORNACK, S.; ZIPFEL, C.; ROBATZEK, S.; HOGENHOUT, S. A.; KAMOUN, S. Effector biology of plant associated organisms: concepts and perspectives. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 77, p. 235-247, 2012.

WOO, S. L.; PEPE, O. Microbial consortia: promising probiotics as plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1801, 2018.

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**, v. 235, n. 2, p. 235-242, 2001.

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**, v. 65, n. 3, p. 1061-1070, 1999.



# ***Trichoderma*: metabolitos secundarios**

*Marcelo Henrique Soller Ramada*

*Fabyano Alvares Cardoso Lopes*

*Cirano José Ulhoa*

## **Introducción**

Los hongos del género *Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales) son saprófitos, miembros activos de la microbiota del suelo en donde participan en innumerables procesos en este medio. Se sabe que este género es cosmopolita, distribuido en diferentes partes del mundo (América, Europa, Asia, África y Oceanía). El género *Trichoderma* se puede encontrar tanto en regiones frías (ej. *T. aureoviride*, presente solo en el Reino Unido y Europa) y en regiones tropicales (por ejemplo, *T. stromaticum*, que se encuentra solo en las Américas) (Samuels, 2006; Samuels et al., 2000). También existen reportes sobre la presencia de *Trichoderma* spp. en condiciones extremas como en suelo antártico (Hughes et al, 2007), incluso en tanques de queroseno (Klein; Eveleigh, 1998).

Esta versatilidad para ocupar diferentes hábitats está relacionada con la plasticidad genética de los individuos de este género, permitiendo su supervivencia en diferentes localidades y diferentes condiciones (Benítez et al., 2004; Druzhinina et al, 2012; Zeilinger et al., 2016). Los factores ambientales que son reconocidos por las proteínas receptoras desencadenan la transducción de señales que normalmente resultan en la activación o represión de diferentes genes (Zeilinger et al., 2016). Este cambio en el perfil de la transcripción culmina en la producción de un contenido proteico distinto, evidenciando la diversidad en su capacidad metabólica y, en consecuencia, una respuesta del organismo al estímulo percibido (Kubicek et al, 2008).

Debido a su amplia distribución, consecuencia de su éxito metabólico, el género *Trichoderma* ha sido objeto de numerosas investigaciones enfocadas al estudio de su asociación

con la microbiota y con plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas (Harman et al., 2004; Lopes et al., 2012; Ramada et al., 2016; Steindorff et al., 2014; Vinale et al., 2008, 2009; Viterbo et al., 2007). El uso del género *Trichoderma* ha mostrado resultados satisfactorios en varios cultivos por razones tales como su capacidad de promover la resistencia de las plantas (Harman et al., 2004; Osbourn, 2010; Vinale et al., 2012) o de controlar el crecimiento de las poblaciones de diversos agentes fitopatógenos que atacan una amplia variedad de cultivos agrícolas (Medeiros et al., 2017; Debode et al., 2018; Almeida et al., 2007; Geraldine et al., 2013; Marra et al., 2019). Así, el género *Trichoderma* ha sido ampliamente utilizado como agente de biocontrol de hongos fitopatógenos de importancia agrícola.

En Brasil, la mayoría de los productos registrados a base de agentes de biocontrol son formulaciones que contienen conidios de *Trichoderma* spp. como ingrediente activo (Agrofit, c2003). Sin embargo, a medida que avanza la investigación en el conocimiento de los componentes químicos de *Trichoderma* spp. asociados con su capacidad para interactuar con plantas y fitopatógenos, existe un mayor interés en la elaboración de productos a partir de estos metabolitos. Así, este capítulo tiene como objetivo discutir, en líneas generales, el conocimiento existente sobre los metabolitos, principalmente los secundarios, producidos por *Trichoderma* spp. durante su interacción con la microbiota y plantas de interés económico.

### ***Trichoderma* spp. y el metabolismo secundario**

El género *Trichoderma* es conocido por ser extremadamente competitivo en la colonización de un ambiente, lo que conduce a cambios en la comunidad microbiana (Chen et al., 2012). El éxito del género *Trichoderma* en la colonización de diferentes ambientes es el principal motivo por el cual este género es utilizado en el control del crecimiento de fitopatógenos: competencia por nutrientes, producción de enzimas capaces de hidrolizar la pared celular del hospedante y la producción de metabolitos secundarios (Sivan; Chet, 1989).

El término “metabolitos secundarios” se refiere a compuestos químicamente diversos involucrados en la señalización, el desarrollo e interacción con otros organismos. En general, los metabolitos secundarios producidos por *Trichoderma* spp. a menudo se asocian con ciertas actividades relacionadas con el metabolismo de los hongos, sin embargo, estos compuestos no son cruciales durante la fase de crecimiento (Chiang et al., 2009; Keller et al, 2005). Si bien no juegan un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo del hongo, los metabolitos secundarios son importantes en la colonización de hábitats, ofreciendo una ventaja ecológica en la conquista del medio ambiente. Por lo tanto, la amplia variedad de metabolitos secundarios está relacionada con la gran diversidad de organismos objetivo que el género *Trichoderma* puede parasitar (Mukherjee et al, 2012; O'brien; Wright, 2011).

Los metabolitos secundarios son compuestos de baja masa molecular (<3 kDa) y son muy apreciados en los sectores industrial y agrícola (Herbert, 1989; Vinale et al., 2014),

pudiendo exhibir una amplia variedad de funciones biológicas y actuar como protagonistas en diversas interacciones entre organismos (por ejemplo, hongo - hongo, hongo - planta, hongo - microbiota) (Hanson, 2003). La producción de metabolitos secundarios se puede vincular a dos rutas de síntesis en hongos: i - alteración de algún metabolito primario, como Acetil Coenzima A y aminoácidos, a través de las policétido sintetas, mevalonato, entre otras (Vinale et al., 2014); ii - productos de complejos enzimáticos llamados sintetetas no ribosómicas, conocidos como peptaiboles (Mukherjee et al., 2011).

Actualmente, se conocen más de 500 tipos de estructuras diferentes (Brito et al., 2014; Patil et al., 2016; Reino et al., 2008). Los compuestos como quinonas, pironas, terpenoides, esteroides (Reino et al., 2008), gliotoxinas, gliovirinas (Howell, 1991; Weindling; Emerson, 1936) y péptidos antibióticos (peptaiboles) (Daniel; Rodrigues Filho, 2007) son ejemplos de grupos de los metabolitos secundarios producidos por *Trichoderma* spp. Dentro de la diversidad de metabolitos secundarios producidos por el género *Trichoderma*, algunos metabolitos se destacan por su uso en la industria, por su eficiencia en su actividad antibiótica o por su importancia en la promoción de eventos beneficiosos en las plantas (Tabla 1). Las relaciones de estos metabolitos con fitopatógenos y plantas se discutirán a continuación.

**Tabla 1.** Principales metabolitos secundarios producidos por el género *Trichoderma*.

Clase	Metabolito secundario	Especie de <i>Trichoderma</i>	Actividades	Organismos que controla	Referencias
Epipolitioidioxopiperazinas	Gliotoxina y gliovirinas	<i>T. virens</i>	Antimicrobiana	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium ultimum</i>	Howell, 1991; Patron et al., 2007; Weindling, 1932)
Policetídeos	Antroquinonas	<i>T. polysporum</i>	Antimicrobiana	<i>Fomes annosus</i> , <i>Fusarium</i> spp.	(Donnelly; Sheridan, 1986; Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998)
	Koningininas A, B, C, D, E, G, L, M	<i>T. harzianum</i> , <i>T. koningii</i> , <i>T. aureoviride</i>	Antimicrobiana	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Phytophthora cinnamomi</i> , <i>Pythium middletonii</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> , <i>Gaeumannomyces graminis</i>	(Almassi et al., 1991; Dunlop et al., 1989; Ghisalberti; Rouland, 1993; Lang et al., 2015)
Pironas	6-pentil- $\alpha$ -pirona (6-PP)	<i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> , <i>T. atroviride</i>	Antimicrobiana e inducciones benéficas en plantas	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium moniliforme</i>	(Dennis; Webster, 1971; El-Hasan; Buchenauer, 2009)
	Massoillactona	<i>T. harzianum</i> , <i>T. virens</i>	Antimicrobiana	<i>Rhizoctonia bataticola</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>	(Dubey et al., 2011)
Terpenoides	Viridíol	<i>T. virens</i> , <i>T. hamatum</i>	Antimicrobiana	<i>Aspergillus</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i>	(Howell; Stipanovic, 1994; Sakuno et al., 2000; Wipf; Kerekes, 2003)

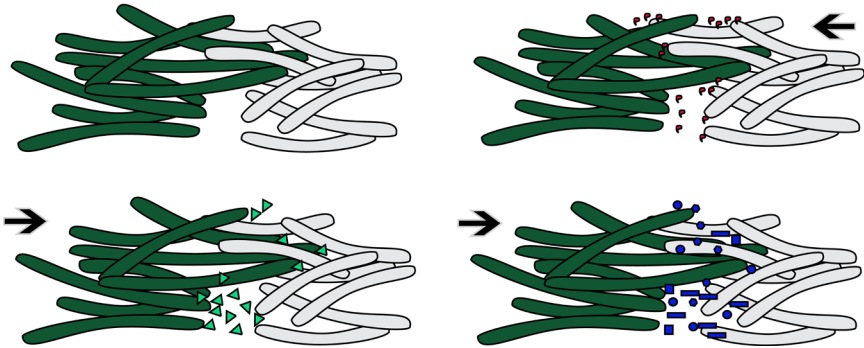


Clase	Metabolito secundario	Especie de Trichoderma	Actividades	Organismos que controla	Referencias
	Viridina	<i>T. viride</i> , <i>T. virens</i>	Antimicrobiana	<i>Fusarium caeruleum</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus niger</i>	(Reino et al., 2008)
Compuestos heterocíclicos	Harzianopiridona	<i>T. harzianum</i>	Antimicrobiana e inducciones benéficas en plantas	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Gaeumannomyces graminis</i> , <i>Pythium ultimum</i>	(Vinale et al., 2006)
	Ácido harziánico	<i>T. harzianum</i>		<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i>	(Vinale et al., 2009)
Butenolideos	Butenolideo	<i>T. harzianum</i>	Antimicrobiana e inducciones benéficas en plantas	<i>Pythium ultimum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Gaeumannomyces graminis</i>	(Almassi et al., 1991; Claydon et al., 1991; Ordentlich et al., 1992; Vinale et al., 2006)
Peptaiboles	Trichotoxinas Asperelinas	<i>T. asperellum</i> , <i>T. viride</i>	Antimicrobiana e inducciones benéficas en plantas	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Artemia salina</i>	(Brewer et al., 1982; Brito et al., 2014; Brückner; Graf, 1983; Chuttrakul et al., 2008; Irmischer; Jung, 1977; Ren et al., 2013)

## Metabolitos involucrados en la interacción entre *Trichoderma* y los agentes fitopatógenos

Algunos metabolitos producidos por hongos tienen una acción antagónica frente a otros hongos, inhibiendo el crecimiento y/o siendo tóxicos para el hongo objetivo. En 1932, Weindling observó que la especie *Trichoderma lignorum*, posteriormente identificada como *T. virens*, era capaz de parasitar otros hongos (Weindling, 1932). Años más tarde, se observó que parte de esta acción antagónica con otros hongos también se debía a la capacidad de secretar un compuesto que llegaría a llamarse gliotoxina (Weindling; Emerson, 1936).

En el campo agrícola, el género *Trichoderma* es utilizado como agente de biocontrol y tiene una gran eficacia en el manejo de diversas enfermedades de plantas de difícil control, como el moho blanco. El control de estas enfermedades, provocadas principalmente por hongos fitopatógenos habitantes del suelo, ocurre a través de una orquestada red de acciones que involucran tanto a *Trichoderma* spp. como al hongo atacado (Figura 1). La secreción de metabolitos secundarios volátiles por *Trichoderma* spp. es fundamental para el contacto inicial con la población del fitopatógeno, ya que esta respuesta será el detonante que desencadenará el proceso de micoparasitismo (Schirmböck et al., 1994; Zeilinger; Omann, 2007).



**Figura 1.** Interacción entre *Trichoderma* spp. y fitopatógenos. (A) Encuentro de las hifas de los hongos. (B) Los metabolitos producidos por *Trichoderma* spp. (triángulo verde claro). (C) Respuesta de los fitopatógenos (rojo) debido a la acción de *Trichoderma* spp. (D) Contra respuesta de *Trichoderma*: secreción de enzimas hidrolíticas (azul). La flecha indica la dirección de la respuesta. Las hifas de *Trichoderma* están representadas en color verde. Las hifas de fitopatógenos están representadas en color gris.

Los metabolitos secundarios de *Trichoderma* han sido objeto de varios estudios desde diferentes focos, entre los cuales destacan el enfoque biotecnológico que tiene como objetivo la búsqueda de un nuevo compuesto de acción eficaz y el enfoque molecular, que tiene como objetivo comprender cómo estos compuestos impactan en el proceso de micoparasitismo. El género *Trichoderma* produce varios grupos de metabolitos secundarios, algunos han sido ampliamente estudiados, mientras que otros aún sus metabolismos son relativamente desconocidos. Según Ghisalberti; Sivasithamparam (1991), los metabolitos secundarios de acción antibiótica se dividen en tres clases: i - antibióticos volátiles; ii - compuestos solubles en agua; iii - peptaiboles (Ghisalberti; Sivasithamparam, 1991).

### Policétidos

Los policétidos pertenecen a un grupo de metabolitos secundarios que tienen diferentes estructuras y funciones. La biosíntesis de estos compuestos se produce a partir de la unión de unidades repetitivas de ácidos grasos de cadena corta, como acetato o propionato, de forma similar a la biosíntesis de ácidos grasos. La reacción de condensación es catalizada por enzimas policétido-sintasa (Patil et al., 2016).

La principal función observada de esta clase de metabolitos está relacionada con sus actividades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitarias y antitumorales, lo que despierta el interés de ser aplicado en el campo agrícola y farmacológico. En agricultura, *Trichoderma* spp. son los principales productores de policétidos para usos beneficiosos. Los ejemplos de

compuestos incluyen tricoharzinas (Kobayashi et al., 1993); tricodimeroles (Zhang et al., 2014); trichodermatoides A, B, C y D (Sun et al., 2008); koningininas A, B, D, E y G (Almassi et al., 1991; Ghisalberti; Rouland, 1993); y koningininas L y M (Lang et al., 2015). Los policétidos de *Trichoderma* spp. son reportados en la bibliografía como tóxicos para *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora cinnamomi*, *Pythium middletonii*, *Fusarium oxysporum* y *Bipolaris sorokiniana*.

Dentro de la clase de los policétidos, podemos mencionar las quinonas. La estructura general de las quinonas presenta un anillo quinonoide que puede presentar modificaciones en su estructura, presencia de anillos antracénicos (antraquinonas) o modificaciones que se asemejan a un benceno debido a los dobles enlaces en el ciclo (benzoquinonas), por ejemplo. Las especies del género *Trichoderma* producen antraquinonas y benzoquinonas que tienen diferentes funciones biológicas.

En el género *Trichoderma*, la pigmentación verdosa se debe a la producción de antraquinonas en presencia de rayos UV (Betina et al., 1986; Ghisalberti, 2002). Además, se ha observado que las antraquinonas se producen cuando representantes de la especie *T. polysporum* se ponen en contacto con el hongo *Fomes annosus* y *Fusarium* spp., con los cuales muestran una acción antagonista (Donnelly; Sheridan, 1986; Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998). Entre las antraquinonas se encuentran las moléculas de tricodermaol que tienen actividad antagonista contra *Bacillus subtilis* y *Streptococcus aureus*, crisofanol con actividad antagonista contra *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Aspergillus fumigatus* (Adachi et al., 1983; 2000). Las benzoquinonas tienen la característica de ser muy volátiles y tener un efecto antagonista frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, como por ejemplo la aurantiogliocladina (Taylor, 1986).

## Pironas

Las pironas son compuestos cíclicos que contienen seis anillos insaturados con un átomo de oxígeno y un grupo funcional cetona. Las pironas se observan en dos formas isoméricas: 2-pirona ( $\alpha$ -pirona) y 4-pirona ( $\gamma$ -pirona). -La pirona se encuentra abundantemente en la naturaleza y ha sido aislada de diversas fuentes biológicas con diferentes actividades, como antifúngica, antibiótica, citotóxica, neurotóxica, fitotóxica, etc. (McGlacken; Fairlamb, 2005).

El género *Trichoderma* tiene una amplia gama de pironas como armas para combatir a los patógenos. La 6-pentilpirona (6-PP) fue el primer metabolito antifúngico volátil estudiado, aislado de *T. viride* (Collins; Halim, 1972), que tenía un potencial antifúngico prominente contra *R. solani* (Dennis; Webster, 1971). Este metabolito también es responsable del característico aroma a coco de *Trichoderma* spp. El esclarecimiento de la vía biosintética del 6-PP sugiere que puede llevarse a cabo a partir de la acción de enzimas de la vía de formación

de policétidos (Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998) o del ácido linoleico (Serrano-Carreón y col., 1993).

En 1995, Hill et al., propusieron el uso de *Trichoderma* como agente de biocontrol junto con dos lactonas con propiedades antibióticas: massoilactona y  $\gamma$ -decalactona (Hill et al, 1995). Otro compuesto que mostró una actividad destacada contra *Sclerotium rolfsii* fue la viridipironona (Evidente et al., 2003). Vinale et al. (2012) aislaron un derivado de hidroxil lactona, cerinolactona y, más recientemente, los investigadores aislaron tricodermarina, una lactona diterpénica a partir de *T. asperellum*, que mostró una actividad antifúngica potencial (Chantrapromma et al., 2014; Vinale et al., 2012).

## Terpenoides

Los terpenos son una clase importante de metabolitos secundarios, que suelen estar relacionados con la defensa de plantas y a los microorganismos, además de tener un olor fuerte (Patil et al, 2016). Los terpenos son hidrocarburos naturales que se forman a partir de la condensación de unidades de isopreno. Los terpenoides son similares a los terpenos, pero se diferencian en que tienen algún tipo de grupo funcional adicional. Por lo tanto, el término terpenos y terpenoides son intercambiables.

Los terpenos se pueden clasificar en diferentes categorías según el número de unidades de isoprenos incorporadas en el esqueleto principal. El isopropeno, también llamado 2-metil-1,3-butadieno, es un compuesto que tiene cinco átomos de carbono (5C). Los terpenos con dos unidades isoprenoides se denominan monoterpenos (10C). La adición de una o más unidades de isopreno conduce a las siguientes clasificaciones: sesquiterpenos (15C), diterpenos (20C), sesterterpenos (25C), triterpenos (30C), carotenoides, etc. (Patil et al, 2016).

*Trichoderma* spp. tienen una amplia variedad de terpenoides. Los ácidos tricodérmicos A y B fueron aislados a partir de *T. virens* (Yamaguchi et al., 2010) y mostraron actividad anticancerígena. Se describieron otros dos terpenoides, harzianona y tricoacorenol, cuando *Trichoderma* spp. interactúa con *Xylocarpus granatum* (Zhang et al., 2014). Se asume que el género *Trichoderma* no produce monoterpenos o que los producen en bajas concentraciones, ya que aún no han sido descritos (Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998). El diterpeno harziandiona fue aislado de *T. harzianum*. Aunque no se probó la actividad de este último, un compuesto similar aislado de *T. viride*, que tenía la misma estructura química, mostró actividad antifúngica (Sivasithamparam; Ghisalberti, 1998).

Se han descrito triterpenos y esteroides, como lanostadiol, ergosterol, pirocalciferol, entre otros en *T. pseudokoningii*, (Kamal et al, 1971). El viridiol, producido por *T. hamatum*, es un esteroide similar a la viridina, aislado de *T. virens*, que condujo a una disminución en la producción de aflatoxinas por patógenos de plantas (Aloj et al., 2009; Sakuno et al., 2000).

Otros terpenos como farnesil (sesquiterpeno), geranil-geranil difosfato (diterpeno) y escualeno (triterpeno) son otros ejemplos de terpenos producidos por *Trichoderma* spp.

### **Péptidos con actividad antibiótica (peptaiboles)**

*Trichoderma* spp. producen una clase de metabolitos secundarios que tienen aminoácidos inusuales, llamados peptaiboles. Estos son péptidos hidrofóbicos y lineales que tienen aminoácidos inusuales como el ácido  $\alpha$ -amino isobutírico (Aib), isovalina (Iva), hidroxiprolina (Hyp), así como un N-terminal acetilado y un C-terminal que contiene un aminoalcohol. (Brito et al., 2014).

Los peptaiboles son péptidos no ribosomales. Esto se debe al hecho de que estos compuestos no se forman a partir de la traducción de un ARNm, sino que se deben a complejos multienzimáticos llamados Sintetasas de péptidos no ribosómicos (NRPS) (Brito et al., 2014; Schwarzer et al, 2003). Estos complejos multienzimáticos están formados por un conjunto de módulos, teniendo cada módulo dominios catalíticos responsables de las etapas de síntesis del producto final (Brito et al., 2014; Schwarzer et al, 2003). La especificidad de estos dominios es variable. Algunos sitios de conexión están altamente conservados (Brito et al., 2014; Zeilinger et al., 2016), mientras que otros no. Un ejemplo es el sitio para Aib, que parece aceptar Iva, Val y Ala, lo que termina originando una mezcla de péptidos durante la biosíntesis (Brito et al., 2014; Mukherjee et al., 2011; Stoppacher et al., 2013).

*Trichoderma* spp. son los principales productores de peptaiboles conocidos hasta la fecha (Patil et al, 2016). Estas moléculas se dividieron en nueve subfamilias según el número de aminoácidos, el patrón y el procesamiento en el N o C terminal (Chugh; Wallace, 2001; Neuhofer et al., 2007). El primer peptaibol aislado fue la alameticina a partir de *T. viride* (Meyer; Reusser, 1967). Posteriormente, varios autores identificaron peptaiboles de *Trichoderma* spp., como por ejemplo Rebuffat y colaboradores quienes aislaron peptaiboles de 19 residuos de aminoácidos de *T. longibrachiatum* (Rebuffat et al., 1991), identificaron nueve tricorzinas de dos aislados de *T. harzianum*, que variaron de 14 a 18 residuos de aminoácidos (Rebuffat et al., 1995), y posteriormente Leclerc y colaboradores analizaron su biosíntesis (Leclerc et al., 1998). Además de estos aislados, también se conocen peptaiboles provenientes de linajes de *T. asperellum*, como las asperelinas A, E e G-Z12, así como las tricotoxinas T5D2, 1717A y A-50E, F y G (Brito et al., 2014; Chutrakul et al., 2008; Ren et al., 2013), *T. brevicompactum* (Degenkolb et al., 2008), *T. longibrachiatum* (Leclerc et al., 2001), *T. citrinoviridae* (Maddau et al., 2009), entre otros. Además de los mencionados, existen ocho nuevos peptaiboles de *T. atroviride* (Panizel et al., 2013), lo que demuestra la amplia variedad de especies de *Trichoderma* y peptaibols producidas por este género.

## Otros tipos de metabolitos secundarios

También hay varias otras clases de metabolitos secundarios. Entre ellas, podemos mencionar la clase de dicetopiperazinas (DCP) por su importancia histórica en el estudio de metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. Los DCP son los péptidos cíclicos más pequeños producidos por microorganismos (Patil et al., 2016). La primera DCP aislada fue la gliotoxina a partir de *T. virens* (Weindling; Emerson, 1936), que demostró ser eficaz en el control del crecimiento de *R. solani* (Howell et al., 1993). La gliovirina, también obtenida de *T. virens*, no tuvo actividad contra *R. solani*. Sin embargo, fue eficaz para controlar *P. ultimum* (Howell et al., 1993). La acción antimicrobiana de los diversos metabolitos secundarios discutidos hasta ahora refuerzan la importancia de seleccionar cepas de *Trichoderma* spp. que sean buenas productoras de estos metabolitos para un mayor éxito como agente de biocontrol. Además, otra característica deseable es la producción de metabolitos capaces de inducir efectos deseables en las plantas.

## Metabolitos involucrados en la interacción entre *Trichoderma* y la planta

Es conocido que *Trichoderma* spp. y la microbiota del suelo funcionan de manera sincronizada, lo que tiene consecuencias directas y positivas para las plantas que habitan en la misma región, como una mayor eficiencia en la absorción de nutrientes y agua, inducción de resistencia a enfermedades causadas por fitopatógenos y crecimiento, por ejemplo (Harman, 2006; Harman et al., 2004; Küçük et al., 2008). En este contexto, varios estudios se han centrado en los efectos beneficiosos sobre la promoción del crecimiento y en la inducción de la respuesta inmune en las plantas.

## Promoción del crecimiento en plantas

La producción de antibióticos suele estar correlacionada con la capacidad de control sobre otros microorganismos mostrada por *Trichoderma* spp. Sin embargo, además de la actividad directa contra los fitopatógenos, algunos compuestos producidos por *Trichoderma* son capaces de alterar sustancialmente el metabolismo de las plantas hospedantes (Patil et al., 2016). El aumento de la productividad de las plantas es evidente cuando las semillas expuestas a conidios, pero separadas por celofán, sin contacto, muestran un aumento en el crecimiento, sugiriendo que los metabolitos de *Trichoderma* spp. actúan no solo como promotores del crecimiento, sino también como moléculas de señalización (Benítez et al., 2004; Vinale et al., 2012).

Algunas cepas de *Trichoderma* son capaces de incrementar la biomasa vegetal promoviendo el crecimiento lateral de la raíz a través de mecanismos dependientes de las auxinas (Contreras-Cornejo et al., 2009) y/o son capaces de producir ácido indolacético

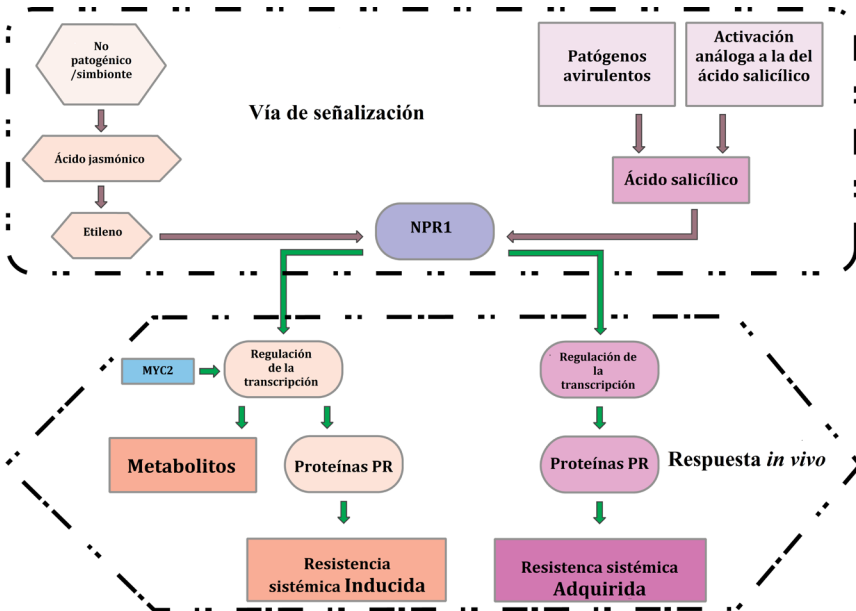
(AIA) o análogos de las auxinas (Hoyos-Carvajal et al, 2009). Cutler y colaboradores (Cutler et al., 1986, 1989) y Parker y colaboradores (Parker et al., 1995a, 1995b, 1997) aislaron, identificaron y probaron algunos metabolitos secundarios, como las konigininas A-C, E, G y 1-5 a partir de *T. koningii* y 6-PP a partir de *T. harzianum* y observaron que estos compuestos actúan como reguladores del crecimiento de las plantas. Estos compuestos mostraron una actividad dependiente de la concentración, siendo tóxicos para el coleóptilo de trigo a una concentración de 1 mM, pero no a 0,1 mM (Cutler et al., 1986, 1989; Parker et al., 1995a, 1995b, 1997). Estas dos especies también presentaron ciclonerodiol, un sesquiterpeno que también indujo el crecimiento (Cutler; Jacyno, 1991; Ghisalberti; Rowland, 1993). Recientemente, un compuesto heterocíclico de nitrógeno, llamado ácido harziánico fue aislado y probado en plántulas de canola (*Brassica napus*), que también mostró actividad dependiente de la concentración (Vinale et al., 2009).

El efecto dosis-respuesta de *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas debe investigarse más a fondo. Algunos metabolitos pueden actuar como compuestos similares a las auxinas, que tienen una actividad óptima en bajas concentraciones ( $10^{-1}$   $\mu$ M), sin embargo, pueden tener un efecto inhibitor a dosis más altas (Cleland, 1972). Se observó que un butanolideo (Vinale et al., 2012) y el 6-PP mostraron una actividad similar a la auxina en tallos de guisantes (*Pisum sativum*) y también estimularon el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y canola (Vinale et al., 2008).

### Inducción de resistencia en plantas

Las plantas acumulan compuestos que activan los mecanismos de defensa sistémicos para proteger los tejidos sanos. Esta respuesta de larga duración y de amplio espectro se presenta de dos formas: resistencia sistémica adquirida o SAR (*Systemic Acquired Resistance*) y resistencia sistémica inducida o ISR (*Induced Systemic Resistance*), que se considera más leve que la SAR (Nunes, 2018; Pieterse et al., 2014). La activación de las respuestas de defensa implica la regulación del equilibrio de las hormonas vegetales como el etileno (Et), el ácido salicílico (SA) y el ácido jasmónico (JA), lo que varía con el tipo de organismo invasor y los efectores implicados. La respuesta a patógenos biotróficos o patógenos avirulentos generalmente tiene al SA como molécula de señalización e induce la SAR, mientras que los agentes inductores de necrosis (no patógenos y simbióticos, así como posiblemente necrotrofos) activan preferentemente la cascada de señalización que involucra JA/Et, correlacionada con la ISR (Bashir et al., 2016; Lata et al., 2015; Nunes, 2018; Walters et al., 2013). Ambos involucran la cascada de señalización de diferentes proteínas relacionadas con la patogénesis, pero las diferentes fitohormonas activan factores de transcripción específicos dando como resultado la modulación de la expresión de enzimas y metabolitos que caracterizan cada vía (Figura 2). Las

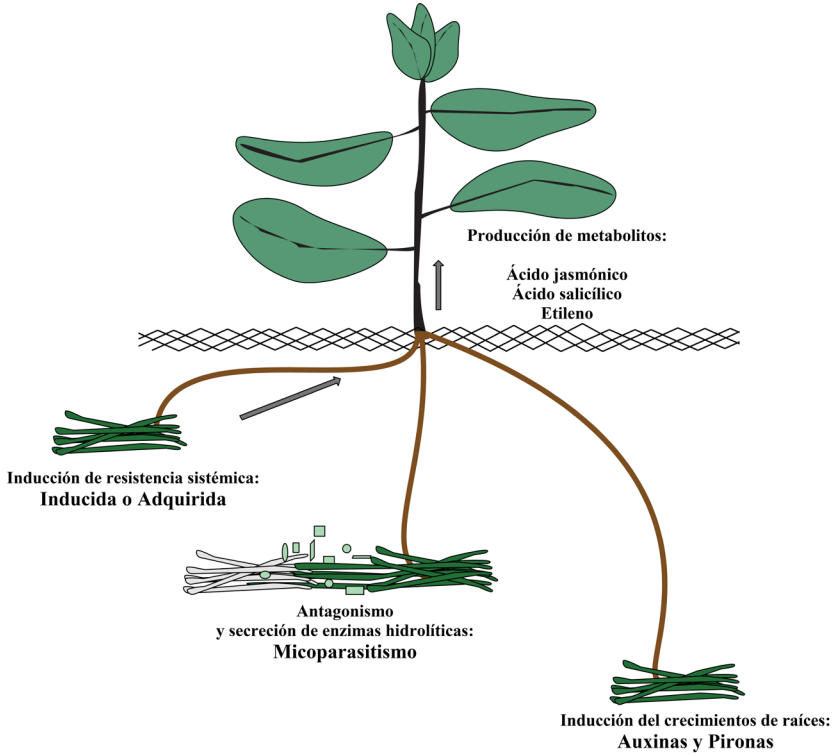
vías de señalización son complejas e intrincadas y los factores de transcripción (por ejemplo, MYC2) involucrados actúan de manera interdependiente (Nunes, 2018).



**Figura 2.** Mecanismo de activación y acción de resistencia sistémica en plantas. La resistencia sistémica inducida y la resistencia sistémica adquirida son estimuladas por diversos factores externos que activan cascadas que dan como resultado las respuestas de defensa de la planta.

Además de promover el crecimiento, diferentes clases de metabolitos pueden actuar como elicitores o inductores de resistencia durante la interacción *Trichoderma*-planta (Woo et al., 2006; Woo; Lorito, 2007). La inducción de la respuesta inmune en plantas por *Trichoderma* spp. es desencadenada por diferentes clases de moléculas de señalización (Figura 3), como proteínas, incluidas las codificadas por genes de avirulencia (*Avr*), péptidos, enzimas, moléculas pequeñas como oligosacáridos provenientes de la degradación de las paredes celulares y metabolitos secundarios (Hermosa et al., 2012; Nunes, 2018).





**Figura 3.** Interacción entre el género *Trichoderma* y planta. El género *Trichoderma* tiene efectos indirectos (antagonismo y micoparasitismo) y directos (inducción de resistencia sistémica y promoción del crecimiento) sobre la planta. Las hifas de *Trichoderma* están representadas de color verde. Las hifas de fitopatógenos están representadas de color gris.

Al tratar plántulas de tomate y canola con un conjunto de metabolitos secundarios purificados (6-PP, harzianopiridona y un butenólido), se observó una reducción de los síntomas de las enfermedades causadas por *Botrytis cinerea* y *Leptosphaeria maculans* (Vinale et al., 2008). También se observó un aumento en la expresión de genes de respuesta de la planta, como quitinasas, endoquitinasas y proteínas relacionadas con patógenos 1 (PR-1) (Vinale et al., 2008). En plántulas de maíz, se observó un aumento en la actividad de las peroxidasas, polifenol oxidasas y  $\beta$ -1,3-glucanasa tanto en los brotes como en las raíces cuando se aplicó 6-PP, lo que indica una inducción de defensa (El-Hasan; Buchenauer, 2009). Además, la aplicación de 6-PP al suelo, cuatro días antes de la inoculación con *Fusarium moniliforme*, resultó en la supresión de la enfermedad y la promoción del crecimiento en las plántulas tratadas en comparación con el grupo control (Vinale et al., 2012). Lo mismo se observó con la aplicación

de ácido harziánico en tomates, en los que se observó un aumento en la expresión de genes de resistencia, disminuyendo el impacto causado por *R. solani* (Manganiello et al., 2018).

Los peptaiboles representan otra clase de moléculas inductoras de respuesta en la planta producidas por *Trichoderma* spp. La aplicación exógena de alameticina (Macías et al., 2000), un peptaibol de 20 residuos producido por *T. viride*, estimuló una respuesta de defensa en *Phaseolus lunatus* (Engelberth et al., 2001) y *Arabidopsis thaliana* (Chen et al., 2003). En *P. lunatus*, esta respuesta incluyó la síntesis de salicilato y volúmenes compuestos, mientras que en *A. thaliana* hubo un aumento en la producción de salicilato de metilo.

Recientemente, los estudios han demostrado que el truncamiento de la fase de lectura del gen *tex1*, referente a una NRPS, hace imposible producir peptaiboles con 18 residuos de tamaño en *T. virens* (Vinale et al., 2012; Viterbo et al., 2007). Plantas de pepino cultivadas con la cepa modificada de *T. virens* mostraron una respuesta sistémica inducida significativamente menor contra el patógeno foliar *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* y una menor producción de compuestos con actividad inhibitoria contra la bacteria en comparación con pepinos cultivados en presencia de la cepa silvestre. Dos peptaiboles sintéticos de 18 residuos al ser aplicados a plántulas de pepino indujeron una respuesta sistémica contra las bacterias foliares, así como la producción de compuestos antimicrobianos y llevaron a un aumento en la expresión de genes relacionados con la respuesta al estrés oxidativo (Viterbo et al., 2007). Estos datos refuerzan la importancia de los peptaiboles como moléculas de señalización para la comunicación entre *Trichoderma* spp. y plantas, que dan como resultado la activación de las respuestas de defensa de estas últimas, además de su actividad antimicrobiana *per se*.

### Consideraciones finales

*Trichoderma* es capaz de producir metabolitos con diferentes actividades, siendo la más interesante para el campo agrícola la capacidad de promover el crecimiento de las plantas, así como la capacidad de inhibir el crecimiento de fitopatógenos, ya sea por una acción directa o por una inducción de resistencia sistémica en las plantas hospedantes. Los productos compuestos por metabolitos, solos o en mezclas, son candidatos prometedores para la generación de nuevos productos por su facilidad de producción, escalado y posibilidades de formulación, permitiendo así un mayor tiempo de almacenamiento y preparación para su aplicación según el cultivo de interés.

## Referencias

- ADACHI, T.; AOKI, H.; OSAWA, T.; NAMIKI, M.; YAMANE, T.; ASHIDA, T. Structure of trichodermaol, antibacterial substance produced in combined culture of *Trichoderma* sp. with *Fusarium oxysporum* or *Fusarium solani*. **Chemistry Letters**, v. 12, n. 6, p. 923-926, 1983.
- AGARWAL, S. K.; SINGH, S. S.; VERMA, S.; KUMAR, S. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, n. 1-2, p. 43-46, 2000.
- AGROFIT: consulta abierta: productos formulados. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponible em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acceso el: 20 ago. 2019.
- ALMASSI, F.; GHISALBERTI, E. L.; NARBAY, M. J.; SIVASITHAMPARAM, K. New antibiotics from strains of *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, v. 54, n. 2, p. 396-402, 1991.
- ALMEIDA, F. B. R.; CERQUEIRA, F. M.; SILVA, R. N.; ULHOA, C. J.; LIMA, A. L. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoglyphia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. **Biotechnology Letters**, v. 29, n. 8, p. 1189-1193, 2007.
- ALOJ, V.; VINALE, F.; WOO, S.; MARRA, R.; RUOCCO, M.; LANZUISE, S.; RITTIENI, A.; CAMPANILE, G.; SCALA, F.; CAVALLO, P. Use of a *Trichoderma* spp. enzyme mixture to increase feed digestibility and degrade mycotoxins. **Journal of Plant Pathology**, v. 91, n. 4, 2009.
- BASHIR, Z.; SHAFIQUE, S.; AHMAD, A.; SHAFIQUE, S.; YASIN, N. A.; ASHRAF, Y.; IBRAHIM, A.; AKRAM, W.; NOREEN, S. Tomato plant proteins actively responding to fungal applications and their role in cell physiology. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 257, 2016.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODON, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BETINA, V.; SEDMERA, P.; VOKOUN, J.; PODOJIL, M. Anthraquinone pigments from a conidiating mutant of *Trichoderma viride*. **Experientia**, v. 42, n. 2, p. 196-197, 1986.
- BREWER, D.; FEICHT, A.; TAYLOR, A.; KEEPING, J. W.; TAHA, A. A.; THALLER, V. Ovine ill-thrift in Nova Scotia. 9. Production of experimental quantities of isocyanide metabolites of *Trichoderma hamatum*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 28, n. 11, p. 1252-1260, 1982.
- BRITO, J. P.; RAMADA, M. H.; MAGALHÃES, M. T.; SILVA, L. P.; ULHOA, C. J. Peptaibols from *Trichoderma asperellum* TR356 strain isolated from Brazilian soil. **SpringerPlus**, v. 3, n. 1, p. 600, 2014.
- BRÜCKNER, H.; GRAF, H. Paracelsin, a peptide antibiotic containing aminoisobutyric acid, isolated from *Trichoderma reesei* Simmons Part A. **Experientia**, v. 39, n. 5, p. 528-530, 1983.
- CHANTRAPROMMA, S.; JEERAPONG, C.; PHUPONG, W.; QUAH, C. K.; FUN, H.-K. Trichodermaerin: a diterpene lactone from *Trichoderma asperellum*. **Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online**, v. 70, n. 4, p. 408-409, 2014.
- CHEN, F.; D'AURIA, J. C.; THOLL, D.; ROSS, J. R.; GERSHENZON, J.; NOEL, J. P.; PICHERSKY, E. An *Arabidopsis thaliana* gene for methylsalicylate biosynthesis, identified by a biochemical genomics approach, has a role in defense. **The Plant Journal**, v. 36, n. 5, p. 577-588, 2003.
- CHEN, L.-H.; HUANG, X.-Q.; ZHANG, F.-G.; ZHAO, D.-K.; YANG, X.-M.; SHEN, Q.-R. Application of *Trichoderma harzianum* SQR T037 bio-organic fertilizer significantly controls Fusarium wilt and affects the microbial communities of continuously cropped soil of cucumber. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 12, p. 2465-2470, 2012.
- CHIANG, Y. M.; LEE, K. H.; SANCHEZ, J. F.; KELLER, N. P.; WANG, C. C. Unlocking fungal cryptic natural products. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 11, p. 1505, 2009.
- CHUGH, J. K.; WALLACE, B. A. **Peptaibols: models for ion channels**. [London]: Portland Press Limited, 2001.
- CHUTRAKUL, C.; ALCOCER, M.; BAILEY, K.; PEBERDY, J. F. The production and characterisation of trichotoxin peptaibols, by *Trichoderma asperellum*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, n. 9, p. 1694-1706, 2008.
- CLAYDON, N.; HANSON, J. R.; TRUNEH, A.; AVENT, A. G. Harzianolide, a butenolide metabolite from cultures of *Trichoderma harzianum*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 11, p. 3802-3803, 1991.
- CLELAND, R. The dosage-response curve for auxin-induced cell elongation: a reevaluation. **Planta**, v. 104, n. 1, p. 1-9, 1972.

- COLLINS, R. P.; HALIM, A. F. Characterization of the major aroma constituent of the fungus *Trichoderma viride*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, n. 2, p. 437-438, 1972.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C.; LÓPEZ-UCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 149, n. 3, p. 1579-1592, 2009.
- CUTLER, H. G.; COX, R. H.; CRUMLEY, F. G.; COLE, P. D. 6-Pentyl- $\alpha$ -pyrone from *Trichoderma harzianum*: its plant growth inhibitory and antimicrobial properties. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 50, n. 11, p. 2943-2945, 1986.
- CUTLER, H. G.; HIMMELSBACH, D. S.; ARRENDALE, R. F.; COLE, P. D.; COX, R. H. Koninginin A: a novel plant growth regulator from *Trichoderma koningii*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 2605-2611, 1989.
- CUTLER, H. G.; JACYNO, J. M. Biological Activity of (-)-Harziano-pyridone Isolated from *Trichoderma harzianum*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 55, n. 10, p. 2629-2631, 1991.
- DANIEL, J. F. S.; RODRIGUES FILHO, E. Peptaibols of *Trichoderma*. **Natural Product Reports**, v. 24, n. 5, p. 1128-1141, 2007. DEBODE, J.; DE TENDER, C.; CREMELIE, P.; LEE, A. S.; KYNDT, T.; MUYLLE, H.; DE SWAEF, T.; VANDECASTEELE, B. *Trichoderma*-Inoculated *Miscanthus* straw can replace peat in strawberry cultivation, with beneficial effects on disease control. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 213, 2018.
- DEGENKOLB, T.; DIECKMANN, R.; NIELSEN, K. F.; GRÄFENHAN, T.; THEIS, C.; ZAFARI, D.; CHAVERRI, P.; ISMAIEL, A.; BRÜCKNER, H.; VON DÖHREN, H. The *Trichoderma breviscompactum* clade: a separate lineage with new species, new peptaibiotics, and mycotoxins. **Mycological Progress**, v. 7, n. 3, p. 177-219, 2008.
- DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: I. Production of non-volatile antibiotics. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 57, n. 1, p. 25-IN3, 1971.
- DONNELLY, D. M.; SHERIDAN, M. H. Anthraquinones from *Trichoderma polysporum*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 10, p. 2303-2304, 1986.
- DRUZHININA, I. S.; SHELEST, E.; KUBICEK, C. P. Novel traits of *Trichoderma* predicted through the analysis of its secretome. **FEMS Microbiology Letters**, v. 337, n. 1, p. 1-9, 2012.
- DUBEY, S. C.; TRIPATHI, A.; DUREJA, P.; GROVER, A. Characterization of secondary metabolites and enzymes produced by *Trichoderma* species and their efficacy against plant pathogenic fungi. **Indian Journal of Agricultural Research**, v. 81, n. 5, p. 455-461, 2011.
- DUNLOP, R. W.; SIMON, A.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L. An antibiotic from *Trichoderma koningii* active against soilborne plant pathogens. **Journal of Natural Products**, v. 52, n. 1, p. 67-74, 1989.
- EL HASAN, A.; BUCHENAUER, H. Actions of 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone in controlling seedling blight incited by *Fusarium moniliforme* and inducing defense responses in maize. **Journal of Phytopathology**, v. 157, n. 11, p. 697-707, 2009.
- ENGELBERTH, J.; KOCH, T.; SCHÜLER, G.; BACHMANN, N.; RECHTENBACH, J.; BOLAND, W. Ion channel-forming alamethicin is a potent elicitor of volatile biosynthesis and tendrils coiling. Cross talk between jasmonate and salicylate signaling in lima bean. **Plant Physiology**, v. 125, n. 1, p. 369-377, 2001.
- EVIDENTE, A.; CABRAS, A.; MADDAU, L.; SERRA, S.; ANDOLFI, A.; MOTTA, A. Viridepyronone, a new antifungal 6-substituted 2-h-pyran-2-one produced by *Trichoderma viride*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 24, p. 6957-6960, 2003.
- GERALDINE, A. M.; LOPES, F. A. C.; CARVALHO, D. D. C.; BARBOSA, E. T.; RODRIGUES, A. R.; BRANDÃO, R. S.; ULHOA, C. J.; LOBO JUNIOR, M. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. **Biological Control**, v. 67, n. 3, p. 308-316, 2013.
- GHISALBERTI, E. L. Detection and isolation of bioactive natural products. In: COLEGATE, S. L.; MOLYNEUX, R. J. (Ed.). **Bioactive natural products: detection, isolation and structural determination**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 11-76.
- GHISALBERTI, E. L. Anti-infective agents produced by the Hyphomycetes genera *Trichoderma* and *Gliocladium*. **Current Medicinal Chemistry-Anti-Infective Agents**, v. 1, n. 4, p. 343-374, 2002.
- GHISALBERTI, E. L.; ROWLAND, C. Y. Antifungal metabolites from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 10, p. 1799-1804, 1993.

- GHISALBERTI, E. L.; SIVASITHAMPARAM, K. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, n. 11, p. 1011-1020, 1991.
- HANSON, J. R. **Natural products: the secondary metabolites**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2003. 148 p.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.
- HARMAN, G. E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, v. 94, n. 2, p. 147-153, 2004.
- HERBERT, R. B. **The biosynthesis of secondary metabolites**. New York: Springer Science & Business Media, 1989. 232 p.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.
- HILL, R. A.; CUTLER, H. G.; PARKER, S. R. *Trichoderma* and metabolites as control agents for microbial plant diseases. **PCT Int Appl**, v. 9520879, n. 10, 1995.
- HOWELL, C. R. Biological control of *Pythium* damping-off of cotton with seed-coating preparations of *Gliocladium virens*. **Phytopathology**, v. 81, n. 7, p. 738-741, 1991.
- HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D. Effect of sterol biosynthesis inhibitors on phytotoxin (viridiol) production by *Gliocladium virens* in culture. **Culture**, v. 84969, p. 972, 1994.
- HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D.; LUMSDEN, R. D. Antibiotic production by strains of *Gliocladium virens* and its relation to the biocontrol of cotton seedling diseases. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, n. 4, p. 435-441, 1993.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, v. 51, n. 3, p. 409-416, 2009.
- HUGHES, K. A.; BRIDGE, P.; CLARK, M. S. Tolerance of Antarctic soil fungi to hydrocarbons. **Science of the Total Environment**, v. 372, n. 2-3, p. 539-548, 2007.
- IRMSCHER, G.; JUNG, G. The hemolytic properties of the membrane modifying peptide antibiotics alamethicin, suzukacillin and trichotoxin. **European Journal of Biochemistry**, v. 80, n. 1, p. 165, 1977.
- KAMAL, A.; AKHTAR, R.; QURESHI, A. A. Biochemistry of microorganisms XX. 2, 5-Dimethoxybenzoquinone, tartaric acid, itaconic acid, succinic acid, pyrocalfiferol, epifriedelinol, lantosta-7, 9 (11), 24-triene-3, 21-diol, trichodermene A, methyl 2, 4, 6-octatriene and cordycepic acid, *Trichoderma* metabolites. **Pakistan Journal of Science and Industrial Research**, v. 14, p. 71-78, 1971.
- KELLER, N. P.; TURNER, G.; BENNETT, J. W. Fungal secondary metabolism-from biochemistry to genomics. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n. 12, p. 937, 2005.
- KLEIN, D.; EVELEIGH, D. E. Ecology of *Trichoderma*. **Trichoderma and Gliocladium**, v. 1, p. 57-74, 1998.
- KOBAYASHI, M.; UEHARA, H.; MATSUNAMI, K.; AOKI, S.; KITAGAWA, I. Trichoharzin, a new polyketide produced by the imperfect fungus *Trichoderma harzianum* separated from the marine sponge *Micale costata*. **Tetrahedron Letters**, v. 34, n. 49, p. 7925-7928, 1993.
- KUBICEK, C. P.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. S. Fungal genus Hypocrea/Trichoderma: from barcodes to biodiversity. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 9, n. 10, p. 753, 2008.
- KÜÇÜK, C.; KIVANÇ, M.; KINACI, E.; KINACI, G. Determination of the growth and solubilization capabilities of *Trichoderma harzianum* T1. **Biologia**, v. 63, n. 2, p. 167, 2008.
- LANG, B.-Y.; LI, J.; ZHOU, X.-X.; CHEN, Y.-H.; YANG, Y.-H.; LI, X.-N.; ZENG, Y.; ZHAO, P.-J. Koninginins L and M, two polyketides from *Trichoderma koningii* 8662. **Phytochemistry Letters**, v. 11, p. 1-4, 2015.
- LATA, C.; MUTHAMILARASAN, M.; PRASAD, M. Drought stress responses and signal transduction in plants. In: PANDEY, G. K. (Ed). **Elucidation of abiotic stress signaling in plants**. Springer, 2015. p. 195-225.
- LECLERC, G.; GOULARD, C.; PRIGENT, Y.; BODO, B.; WRÓBLEWSKI, H.; REBUFFAT, S. Sequences and Antimycoplasmic Properties of Longibrachins LGB II and LGB III, Two Novel 20-Residue Peptaibols from *Trichoderma longibrachiatum*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 2, p. 164-170, 2001.

- LECLERC, G.; REBUFFAT, S.; GOULARD, C.; BODO, B. Directed biosynthesis of peptaibol antibiotics in two *Trichoderma* strains. **The Journal of Antibiotics**, v. 51, n. 2, p. 170-177, 1998.
- LOPES, F. A. C.; STEINDORFF, A. S.; GERALDINE, A. M.; BRANDÃO, R. S.; MONTEIRO, V. N.; LOBO JÚNIOR, M.; COELHO, A. S. G.; ULHOA, C. J.; SILVA, R. N. Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Fungal Biology**, v. 116, n. 7, p. 815-824, 2012.
- MACÍAS, F. A.; VARELA, R. M.; SIMONET, A. M.; CUTLER, H. G.; CUTLER, S. J.; EDEN, M. A.; HILL, R. A. Bioactive Carotenes from *Trichoderma virens*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 9, p. 1197-1200, 2000.
- MADDAU, L.; CABRAS, A.; FRANCESCHINI, A.; LINALDEDDU, B. T.; CROBU, S.; ROGGIO, T.; PAGNOZZI, D. Occurrence and characterization of peptaibols from *Trichoderma citrinoviride*, an endophytic fungus of cork oak, using electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Microbiology**, v. 155, n. 10, p. 3371-3381, 2009.
- MANGANIELLO, G.; SACCO, A.; ERCOLANO, M. R.; VINALE, F.; LANZUISE, S.; PASCALE, A.; NAPOLITANO, M.; LOMBARDI, N.; LORITO, M.; WOO, S. L. Modulation of tomato response to *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and its secondary metabolite harzianic acid. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1966, 2018.
- MARRA, R.; LOMBARDI, N.; D'ERRICO, G.; TROISI, J.; SCALA, G.; VINALE, F.; WOO, S. L.; BONANOMI, G.; LORITO, M. Application of *Trichoderma* strains and metabolites enhances soybean productivity and nutrient content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1814-1822, 2019.
- MEDEIROS, H. A.; ARAÚJO FILHO, J. V.; FREITAS, L. G.; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. **Scientific Reports**, v. 7, p. 40216, 2017.
- MCGLACKEN, G. P.; FAIRLAMB, I. J. 2-Pyrone natural products and mimetics: isolation, characterisation and biological activity. **Natural Product Reports**, v. 22, n. 3, p. 369-385, 2005.
- MEYER, C. E.; REUSSER, F. A polypeptide antibacterial agent isolated from *Trichoderma viride*. **Experientia**, v. 23, n. 2, p. 85-86, 1967. MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M. Secondary metabolism in *Trichoderma*—a genomic perspective. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 35-45, 2012.
- MUKHERJEE, P. K.; WIEST, A.; RUIZ, N.; KEIGHTLEY, A.; MORAN-DIEZ, M. E.; MCCLUSKEY, K.; POUCHUS, Y. F.; KENERLEY, C. M. Two classes of new peptaibols are synthesized by a single non-ribosomal peptide synthetase of *Trichoderma virens*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 6, p. 4544-4554, 2011.
- NEUHOF, T.; DIECKMANN, R.; DRUZHININA, I. S.; KUBICEK, C. P.; VON DÖHREN, H. Intact-cell MALDI-TOF mass spectrometry analysis of peptaibol formation by the genus *Trichoderma*/Hypocrea: can molecular phylogeny of species predict peptaibol structures? **Microbiology**, v. 153, n. 10, p. 3417-3437, 2007.
- NUNES, J. F. **Estudo da interação entre *Trichoderma harzianum* e *Phaseolus vulgaris* utilizando a técnica de transformação aleatória por *Agrobacterium tumefaciens* (AMT)**. 2018. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Brasília.
- O'BRIEN, J.; WRIGHT, G. D. An ecological perspective of microbial secondary metabolism. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, n. 4, p. 552-558, 2011.
- ORDENTLICH, A.; WIESMAN, Z.; GÖTTLIEB, H. E.; COJOCARU, M.; CHET, I. Inhibitory furanone produced by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 2, p. 485-486, 1992.
- OSBOURN, A. Secondary metabolic gene clusters: evolutionary toolkits for chemical innovation. **Trends in Genetics**, v. 26, n. 10, p. 449-457, 2010.
- PANIZEL, I.; YARDEN, O.; ILAN, M.; CARMELI, S. Eight new peptaibols from sponge-associated *Trichoderma atroviride*. **Marine Drugs**, v. 11, n. 12, p. 4937-4960, 2013.
- PARKER, S. R.; CUTLER, H. G.; JACYNO, J. M.; HILL, R. A. Biological activity of 6-pentyl-2H-pyran-2-one and its analogs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2774-2776, 1997.
- PARKER, S. R.; CUTLER, H. G.; SCHREINER, P. R. Koninginin E: isolation of a biologically active natural product from *Trichoderma koningii*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 59, n. 9, p. 1747-1749, 1995a.
- PARKER, S. R.; CUTLER, H. G.; SCHREINER, P. R. Koninginin C: a biologically active natural product from *Trichoderma koningii*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 59, n. 6, p. 1126-1127, 1995b.

- PATIL, A. S.; PATIL, S. R.; PAIKRAO, H. M. Trichoderma secondary metabolites: their biochemistry and possible role in disease management. In: CHOUDHARY, D. K.; VARMA, A. (Eds.). **Microbial-mediated induced systemic resistance in plants**. Singapore: Springer, 2016. p. 69-102.
- PATRON, N. J.; WALLER, R. F.; COZIENSEN, A. J.; STRANEY, D. C.; GARDINER, D. M.; NIERMAN, W. C.; HOWLETT, B. J. Origin and distribution of epipolythiodioxopiperazine (ETP) gene clusters in filamentous ascomycetes. **BMC Evolutionary Biology**, v. 7, n. 1, p. 174, 2007.
- PIETERSE, C. M. J.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; WELLER, D. M.; VAN WEES, S. C. M.; BAKKER, P. A. H. M. Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, n. 1, p. 347-375, 2014.
- RAMADA, M. H. S.; STEINDORFF, A. S.; BLOCH JR, C.; ULHOA, C. J. Secretome analysis of the mycoparasitic fungus *Trichoderma harzianum* ALL 42 cultivated in different media supplemented with *Fusarium solani* cell wall or glucose. **Proteomics**, v. 16, n. 3, p. 477-490, 2016.
- REBUFFAT, S.; GOULARD, C.; BODO, B. Antibiotic peptides from *Trichoderma harzianum*: harzianins HC, proline-rich 14-residue peptaibols. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions**, v. 1, n. 14, p. 1849-1855, 1995.
- REBUFFAT, S.; PRIGENT, Y.; AUVIN GUETTE, C.; BODO, B. Tricholongins BI and BII, 19-residue peptaibols from *Trichoderma longi-brachiatum*. **European Journal of Biochemistry**, v. 201, n. 3, p. 661-674, 1991.
- REINQ, J. L.; GUERRERO, R. F.; HERNÁNDEZ-GALÁN, R.; COLLADO, I. G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 89-123, 2008.
- REN, J.; YANG, Y.; LIU, D.; CHEN, W.; PROKSCH, P.; SHAO, B.; LIN, W. Sequential determination of new peptaibols asperlines G-Z12 produced by marine-derived fungus *Trichoderma asperillum* using ultrahigh pressure liquid chromatography combined with electro-spray-ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1309, p. 90-95, 2013.
- SAKUNO, E.; YABE, K.; HAMASAKI, T.; NAKAJIMA, H. A New Inhibitor of 5'-Hydroxyaverantin Dehydrogenase, an Enzyme Involved in Aflatoxin Biosynthesis, from *Trichoderma hamatum*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 12, p. 1677-1678, 2000.
- SAMUELS, G. J. Trichoderma: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195-206, 2006.
- SAMUELS, G. J.; PARDO-SCHULTHEISS, R.; HEBBAR, K. P.; LUMSDEN, R. D.; BASTOS, C. N.; COSTA, J. C.; BEZERRA, J. L. *Trichoderma stromaticum* sp. nov., a parasite of the cacao witches broom pathogen. **Mycological Research**, v. 104, n. 6, p. 760-764, 2000.
- SCHIRMBÖCK, M.; LORITO, M.; WANG, Y.-L.; HAYES, C. K.; ARISAN-ATAC, I.; SCALA, F.; HARMAN, G. E.; KUBICEK, C. P. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 12, p. 4364-4370, 1994.
- SCHWARZER, D.; FINKING, R.; MARAHIEL, M. A. Nonribosomal peptides: from genes to products. **Natural Product Reports**, v. 20, n. 3, p. 275-287, 2003.
- SERRANO-CARREON, L.; HATHOUT, Y.; BENSOUSSAN, M.; BELIN, J.-M. Metabolism of linoleic acid or mevalonate and 6-pentyl-pyrone biosynthesis by *Trichoderma* species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 9, p. 2945-2950, 1993.
- SIVAN, A.; CHET, I. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. **Microbiology**, v. 135, n. 3, p. 675-682, 1989.
- SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Glucocladium*. **Trichoderma and Glucocladium basic biology taxonomy and genetics**, v. 1, p. 139-191, 1998.
- STEINDORFF, A. S.; RAMADA, M. H. S.; COELHO, A. S. G.; MILLER, R. N. G.; PAPPAS, G. J.; ULHOA, C. J.; NORONHA, E. F. Identification of mycoparasitism-related genes against the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* through transcriptome and expression profile analysis in *Trichoderma harzianum*. **BMC Genomics**, v. 15, n. 1, p. 204, 2014.
- STOPPACHER, N.; NEUMANN, N. K.; BURGSTALLER, L.; ZEILINGER, S.; DEGENKOLB, T.; BRÜCKNER, H.; SCHUHMACHER, R. The comprehensive peptaibiotics database. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, n. 5, p. 734-743, 2013.
- SUN, F.; ZHANG, W.; HU, H.; LI, B.; WANG, Y.; ZHAO, Y.; LI, K.; LIU, M.; LI, X. Salt modulates gravity signaling pathway to regulate growth direction of primary roots in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 146, n. 1, p. 178-188, 2008.
- TAYLOR, A. Some aspects of the chemistry and biology of the genus *Hypocrea* and its anamorphs, *Trichoderma* and *Glucocladium*. **Proceedings of the Nova Scotian Institute of Science**, v. 36, n. 1, p. 27-58, 1986.
- VINALE, F.; FLEMATTI, G.; SIVASITHAMPARAM, K.; LORITO, M.; MARRA, R.; SKELTON, B. W.; GHISALBERTI, E. L. Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. **Journal of Natural Products**, v. 72, n. 11, p. 2032-2035, 2009.

- VINALE, F.; MARRA, R.; SCALA, F.; GHISALBERTI, E. L.; LORITO, M.; SIVASITHAMPARAM, K. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 143-148, 2006.
- 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**, v. 72, n. 1-3, p. 80-86, 2008.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; RUOCCO, M.; WOOD, S.; LORITO, M. Trichoderma secondary metabolites that affect plant metabolism. **Natural Product Communications**, v. 7, n. 11, p. 1545-1550, 2012.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; WOO, S. L.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; RUOCCO, M.; LANZUISE, S. Trichoderma secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, p. 127-139, 2014.
- VITERBO, A. D. A.; WIEST, A.; BROTMAN, Y.; CHET, I.; KENERLEY, C. The 18mer peptaibols from *Trichoderma virens* elicit plant defense responses. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 6, p. 737-746, 2007.
- WALTERS, D. R.; RATSEP, J.; HAVIS, N. D. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 5, p. 1263-1280, 2013.
- WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, v. 22, p. 837-845, 1932.
- WEINDLING, R.; EMERSON, O. H. The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. **Phytopathology**, v. 26, n. 1068, e1070, 1936.
- WIPE, P.; KEREEKES, A. D. Structure reassignment of the fungal metabolite TAEMC161 as the phytotoxin viridiodiol. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 5, p. 716-718, 2003.
- WOO, S. L.; LORITO, M. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In: VURRO, M.; GRESSEL, J. (Eds.). **Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management**. Singapore: Springer, 2007. p. 107-130.
- WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 181-185, 2006.
- YAMAGUCHI, Y.; MANITA, D.; TAKEUCHI, T.; KURAMOCHI, K.; KURIYAMA, I.; SUGAWARA, F.; YOSHIDA, H.; MIZUSHINA, Y. Novel terpenoids, trichoderonic acids A and B isolated from *Trichoderma virens*, are selective inhibitors of family X DNA polymerases. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 74, n. 4, p. 793-801, 2010.
- ZEILINGER, S.; GRUBER, S.; BANSAL, R.; MUKHERJEE, P. K. Secondary metabolism in *Trichoderma*—Chemistry meets genomics. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n. 2, p. 74-90, 2016.
- ZEILINGER, S.; OMANN, M. *Trichoderma* biocontrol: signal transduction pathways involved in host sensing and mycoparasitism. **Gene Regulation and Systems Biology**, v. 1, p. 227-234, 2007.
- ZHANG, M.; LI, N.; CHEN, R.; ZOU, J.; WANG, C.; DAI, J. Two terpenoids and a polyketide from the endophytic fungus *Trichoderma* sp. Xy24 isolated from mangrove plant *Xylocarpus granatum*. **Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 6, p. 421-424, 2014.





# *Trichoderma:* interacciones y estrategias

*Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros*

*Rafaela Araújo Guimarães*

*Júlio Carlos Pereira da Silva*

*Valter Cruz-Magalhães*

*Jorge Teodoro de Souza*

## Introducción

El género *Trichoderma* está ampliamente distribuido en el mundo y tiene una alta diversidad genética y funcional. Varias especies de este género han ganado interés debido a su amplio uso en la agricultura como biofungicidas, biofertilizantes y acondicionadores de suelos, además de ser utilizadas en la industria como fuentes de enzimas hidrolíticas (Mukherjee et al., 2013). Se pueden encontrar en el suelo, asociados a plantas, tanto en la rizosfera como endofíticas (Hanada et al., 2008; Harman et al., 2004). *Trichoderma* tiene varios mecanismos de acción, que incluyen antibiosis, competencia, inducción de resistencia contra diferentes tipos de patógenos y micoparasitismo. Estas características hacen que *Trichoderma* actúe promoviendo el crecimiento de las plantas, induciendo resistencia, suprimiendo patógenos del suelo, entre otros (Harman et al., 2004; Waghunde et al., 2016). Así, *Trichoderma* es un agente de biocontrol versátil con potencial para el desarrollo de productos biológicos. Sin embargo, el desempeño de este hongo depende de factores bióticos y abióticos específicos, como la temperatura, la humedad, el pH y la disponibilidad de nutrientes (Nieto-Jacobo et al., 2017). Además, la planta hospedante también se puede considerar como un factor de variación adicional, directamente asociado con las diferentes respuestas mostradas por *Trichoderma* en campo. No solo la especie, sino también los componentes genéticos intraespecíficos están asociados con diferentes respuestas de *Trichoderma* y sus efectos beneficiosos. Por tanto, el uso de diferentes aislados de *Trichoderma* en distintas variedades o cultivares, puede generar distintas respuestas.

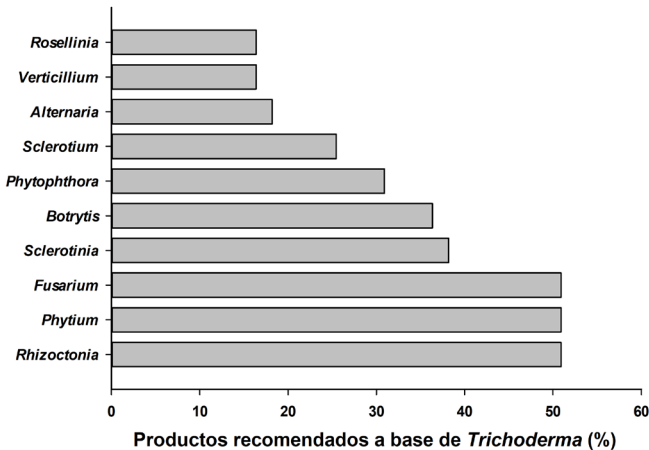
En este capítulo abordaremos las características de los productos registrados con relación a los blancos biológicos y las formulaciones, así como las diferentes interacciones entre *Trichoderma* y los factores bióticos y abióticos y las formas de optimizar la eficiencia del control de enfermedades y promoción del crecimiento a través de estrategias como posicionamiento técnico y mejora.

### **Productos formulados a base de *Trichoderma* spp. y sus objetivos biológicos**

Las empresas especializadas en biológicos y también en agroquímicos han invertido cada vez más en formulaciones basadas en productos biológicos para el control de plagas y enfermedades de plantas. En Brasil se comercializan varios productos a base de *Trichoderma* para su aplicación en diversos cultivos, principalmente contra hongos y nematodos. El aumento del interés en el control biológico de las enfermedades de plantas es también consecuencia de las mejoras en la legislación para el registro de agentes biológicos en el país. Sin embargo, incluso con más de 250 especies de *Trichoderma* ya identificadas (Bissett et al., 2015), se estudian menos de 20 especies en el control biológico de plagas y enfermedades de plantas. Esto se debe a la alta eficiencia de estas especies frente a varios patógenos de importancia y la facilidad en la fabricación y formulación de productos comerciales. En el mundo existen productos registrados a base de *Trichoderma* que actúan contra hongos y nematodos (Waghunde et al., 2016). La mayoría de los objetivos son hongos patógenos transmitidos por el suelo que causan pudrición y marchitez (Figura 1). Esto se debe al predominio ecológico de algunas especies de *Trichoderma* en suelos de diferentes ecosistemas. Además, también se han aislado de lagos, aire, esponjas marinas y tejidos vegetales (Paz et al., 2010; Montero-Barrientos et al., 2011; Mukherjee et al., 2013), demostrando la versatilidad del género. Recientemente, se ha demostrado que los aislados marinos de *Trichoderma* son eficaces contra *Rhizoctonia solani* al inducir respuestas de defensa sistémicas en las plantas (Gal-Hemed et al., 2011).

En Brasil, los productos a base de *Trichoderma* son registrados para el control de enfermedades de plantas (Agrofit, 2003), siendo clasificados como biofungicidas y bionematicidas, y la mayoría de los formulados a base de *T. harzianum* y *T. asperelum*. Estas dos especies se utilizan por la facilidad de aislamiento en un ambiente artificial, ya que son excelentes competidores en el suelo, resisten variaciones ambientales drásticas y presentan múltiples mecanismos contra fitopatógenos (Mukherjee et al., 2013). Los mecanismos de acción de *Trichoderma* pueden involucrar antibiosis, micoparasitismo y competencia. Además, muchos productos se utilizan como reguladores, por el efecto de promover el crecimiento o incluso como inductores de resistencia (Medeiros et al., 2017). La mayoría de los productos se recomiendan para ser aplicados al suelo para el control de hongos transmitidos por el suelo. Sin embargo, algunos productos se recomiendan para su aplicación a semillas o partes aéreas. Para el control de enfermedades como la escoba de bruja (*Moniliophthora pernisiosa*), moho

blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) y marchitez (*Verticillium* sp., *Fusarium* sp.) Además de la aplicación al suelo, también se recomiendan las aspersiones con *Trichoderma* micoparásitos con el objetivo de alcanzar los restos de cultivo y estructuras de supervivencia. En cuanto al control de fitonematodos, generalmente se recomiendan aplicaciones en el tratamiento de semillas o en el surco de siembra para plantas anuales o aplicadas en los hoyos en períodos húmedos del año para plantas perennes.



**Figura 1.** Blancos (patógenos) de los productos biológicos hechos a base de *Trichoderma*

La eficacia de los productos a base de *Trichoderma* puede estar relacionada con varios factores como la naturaleza y fenología de la planta, los Forma de aplicación y las dosis adecuadas. Generalmente, los productos registrados son recomendados por la concentración de propágulos del hongo o por el ingrediente activo. Aunque no están estandarizadas, las unidades utilizadas pueden ser: conidios por gramo o mililitro; conidios viables por gramo o mililitro; unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro (Pinto et al., 2016).

El tratamiento de semillas con *Trichoderma* las protege contra diversos hongos patógenos, prescindiendo a menudo del uso de productos químicos como ya se ha hecho en frijoles, por ejemplo. En el tratamiento de semillas de frijol, el micelio de *T. asperellum* recubre la semilla, brindando protección contra el ataque de hongos que provocan la pudrición de los granos y hongos que causan enfermedades foliares transmitidas por semillas. El uso de productos a base de *T. asperelum* redujo en 90% el número de semillas de frijol infectadas por *Colletotrichum lindemuthianum* (Pomella; Ribeiro, 2009). Otra ventaja de la aplicación en semillas es la reducción de la cantidad de producto aplicado para garantizar la protección al inicio del ciclo

de la planta. Por ejemplo, los productos a base de *Trichoderma* se pueden aplicar a semillas de soja o frijol para protegerlas contra patógenos del suelo como *Phytophthora* y *Rhizoctonia* en la concentración de 50 a 75 g/100 kg de semillas, mientras que en el surco de siembra o en la aplicación postemergencia se recomiendan 50 a 100 g/ha para garantizar la protección.

El uso de *Trichoderma* en el control de enfermedades de la parte aérea, como la roya y las manchas foliares, aún está limitado por factores como la necesidad de adyuvantes de protección, la permanencia del efecto y la eficiencia de los mecanismos de acción en la parte aérea. Sin embargo, en el cultivo de frutales perennes, la protección de frutales frente a hongos como *Botrytis* en la vid, *Monilinia* en frutales de la familia de las *Rosaceae* y *Colletotrichum* sp. en frutales tropicales se puede elaborar con productos a base de *T. harzianum*, resistentes a la radiación ultravioleta. La aplicación de fungicidas cúpricos junto con *T. stromaticum* redujo la formación de ramas con escoba de bruja en el cacao por el micoparasitismo del agente a las estructuras del patógeno (Medeiros et al., 2010). Aunque algunas especies son más resistentes a las variaciones ambientales, como *T. harzianum* y *T. stromaticum*, los productos aplicados en el campo deben soportar condiciones adversas. Por tanto, los productos deben contener en su formulación sustancias aditivas como protectores UV. La mayoría de las especies de *Trichoderma* son muy sensibles a esta radiación, mientras que muchos patógenos de hojas, frutos y restos de cultivos resisten la incidencia de estos rayos. Además, hay que tener en cuenta otras particularidades, como hacer las aplicaciones en horas más frescas del día, comprobar la compatibilidad con otros plaguicidas de aplicación aérea (si se utiliza la mezcla de tanque) y hacer uso de los adyuvantes adecuados. Independientemente del nicho de aplicación, es importante asegurar la agitación constante de la solución, recordando que, a diferencia de la solución de fungicida químico, la solución de un bioproducto es una suspensión y tiende a asentarse con el tiempo.

Los productos a base de *Trichoderma*, formulados en polvo o líquido concentrado, también se utilizan a gran escala en sustratos para la producción de flores y hortalizas, con el objetivo de controlar los fitopatógenos transmitidos por el suelo, como *R. solani* y *Fusarium solani*. Así, la aplicación puede ser en semillas, plántulas y, más comúnmente, en el suelo, unos días antes de la siembra o trasplante. Además, bajo cultivo protegido las variaciones en el medio ambiente son menores. Debido a las condiciones controladas como la menor incidencia de rayos UV y las favorables condiciones de humedad y temperatura, el cuidado requerido para la aplicación de productos biológicos es menor en comparación con el campo. La adición de *Trichoderma* al sustrato para la producción de plántulas de eucalipto y café en viveros promovió un mayor desarrollo y mejor salud del sistema radicular de las plantas, haciéndolas más vigorosas y menos sensibles al estrés causado por el trasplante en campo (Fortes et al., 2007; Mafia et al., 2003; Jesús et al., 2011).

En el suelo, debido a la selección de especies de ese ambiente, las condiciones son favorables para el uso de *Trichoderma*, reflejando la mayor aplicabilidad y mayor número de productos registrados contra patógenos en este hábitat. En el cultivo de papa, el uso de *Trichoderma* en el surco de siembra y en el momento del aporque reduce las manchas provocadas por rizoctoniasis (*R. solani*) y sarna (*Streptomyces scabies*), además de mejorar la calidad de los tubérculos y aumentar la productividad en hasta un 20%. El moho blanco (*S. sclerotiorum*) es una de las enfermedades más importantes de las leguminosas en Brasil. El creciente éxito del uso de *Trichoderma* contra este patógeno en cultivos como frijol, soja y algodón fue un paso importante hacia el control biológico en el país (Pomella; Ribeiro, 2009). La reducción significativa de la incidencia de moho blanco en cultivos de soja, frijol y algodón puede alcanzarse con la aplicación de *Trichoderma* en postemergencia. Por tanto, se requieren de dos a tres aplicaciones en la dosis recomendada durante el ciclo de cultivo para conseguir una colonización eficaz por parte del antagonista. Se recomienda aplicar *Trichoderma* después de la cosecha, especialmente en áreas donde se practica el cultivo de “safrinha”. En este momento, los restos de cultivo de soja se encuentran secos y en condiciones adecuadas para la pronta colonización por el agente de control, además de estar más expuestos los esclerocios. En el control de fitonematodos se han estudiado diferentes aislamientos de *T. harzianum* y *T. lignorum*, principalmente en hortalizas, ya que favorecen el crecimiento de las plantas y reducen el número de agallas y huevos en las raíces (Silva et al., 2018a). Los mecanismos de *T. harzianum* sugeridos contra los fitonematodos son el parasitismo de los huevos, el aumento de la actividad de la quitinasa extracelular y la inducción de la resistencia sistémica (Medeiros et al., 2017). Concentraciones relativamente altas ( $10^{10}$  esporas/g de suelo) de *T. harzianum* y *T. viride* muestran una actividad nematicida significativa, probablemente debido al parasitismo de los huevos (Al-Hazmi; Tariqjaveed, 2016).

### **¿Cómo el medio ambiente regula la eficiencia de *Trichoderma*?**

En el triángulo de las relaciones patógeno-hospedante se ilustra que la enfermedad es el resultado de una interacción compatible entre el hospedante (susceptible), el patógeno (virulento) y el medio ambiente (favorable). Cuando se trata de control biológico, los microorganismos son parte integral del medio ambiente (control biológico natural o suelo supresor) o representan otro vértice, definiendo así un cubo con los cuatro vértices (hospedante, patógeno, medio ambiente y agente de biocontrol) interactuando entre sí. Por lo tanto, estas condiciones deben ser consideradas al momento de aplicar el producto para tener éxito en el control biológico. A continuación, describiremos cómo algunas de las condiciones ambientales y de cultivo pueden regular la eficiencia del biocontrol de *Trichoderma* spp.

### **Efecto de la temperatura, la humedad y la radiación ultravioleta**

Una de las variables involucradas, tanto en la selección como en el posicionamiento de los productos biológicos, es la temperatura, que influye directamente en el comportamiento de *Trichoderma* sp. en el control de enfermedades. El moho blanco (*S. sclerotiorum*) puede ocurrir en un amplio rango de temperatura (17 a 25 °C) y la condición de temperatura más baja (17 a 20 °C) induce germinación carpogénica y, en consecuencia, la epidemia de la enfermedad. A temperaturas más altas (21 a 25 °C) solo hay germinación micelial y, a baja presión de los esclerocios, la enfermedad no ocasionará grandes pérdidas en el cultivo en curso. Para esta enfermedad, se evaluaron diferentes formulaciones de *Trichoderma* spp. para el control de moho blanco en frijoles sembrados en invierno en Minas Gerais (temperatura promedio de 20 °C) y los productos no garantizaron el control de la enfermedad (Júnior et al., 2012), a diferencia de lo encontrado para las pruebas de biocontrol de moho blanco realizado en condiciones menos propicias para la enfermedad, donde se observó un aumento de la productividad de hasta 60% con el uso exclusivo de control biológico a base de *Trichoderma* spp. (Geraldine et al., 2013). Por tanto, la selección de aislados de *Trichoderma* activos a temperaturas más bajas (15 a 19 °C) es deseable para obtener mejores tasas de control de los patógenos que actúan a estas temperaturas, como *S. sclerotiorum* y *Stromatinia cepivora*.

Además de la temperatura, otro factor que regula la eficiencia del biocontrol ejercido por *Trichoderma* sp. es la humedad. La disponibilidad de agua regula no solo la germinación de los conidios, sino también la actividad de las enzimas hidrolíticas producidas durante el micoparasitismo. En el micoparasitismo de los esclerocios de *S. sclerotiorum*, esta actividad enzimática fue mayor con la humedad relativa por encima de 90% (Hannusch; Boland, 1996). Considerando que el micoparasitismo de los esclerocios tiene una correlación directa con el control del moho blanco por *Trichoderma* spp. (Geraldine et al., 2013) es de suma importancia intentar aplicar el agente de biocontrol en un momento en que el dosel de las plantas pueda garantizar una mayor humedad. Una vez establecida en la rizosfera o dentro de las plantas, que son ambientes más estables, *Trichoderma* sp. actúa como bioestimulante y tiene un papel importante en la tolerancia de los estreses abióticos (López-Bucio et al., 2015). Sin embargo, la parte aérea de las plantas tiene una humedad muy variable, lo que dificulta el establecimiento de estos agentes de biocontrol.

En el filoplano, además de las amplias fluctuaciones de humedad y temperatura, también existe la incidencia de rayos ultravioleta que comprometen la estabilidad de las células microbianas. Los microorganismos pigmentados como *Cercospora* y *Botrytis* pueden ser más competitivos que *Trichoderma* spp. Para el control de enfermedades con productos a base de *Trichoderma* spp. es necesario agregar protectores contra la radiación ultravioleta en las formulaciones (Fernandes et al., 2015), especialmente cuando la aplicación del producto está planeada para blancos expuestos al sol.

## Presión de inóculo del patógeno

Un aspecto muy importante para considerar en el control biológico es que los mecanismos de acción de *Trichoderma* spp. son relativamente más lentos en comparación con los productos químicos. Por tanto, su uso debe ser preventivo, es decir, antes de la aparición de la enfermedad. Sin embargo, en la práctica, los productos a base de *Trichoderma* spp. se aplican en áreas donde ya la enfermedad está presente, como el moho blanco (*S. sclerotiorum*) y la pudrición de la raíz (*F. solani*). En estos casos, el retorno de la inversión depende en gran medida de la presión del inóculo existente y es de suma importancia que la empresa que recomienda el producto trabaje con las expectativas del productor con relación al nivel de acción y las ganancias con el uso continuo de la tecnología, siempre basada en datos científicos de pruebas previas, como las propuestas en la prueba de la red de control biológico del moho blanco (Meyer et al., 2014). En áreas donde la presión del inóculo es muy alta, puede haber una reducción en la liberación del apotecio por parte del patógeno, aun cuando no observe aumento en la productividad (Carvalho et al., 2015). Esta ganancia se puede obtener a corto plazo combinando el control biológico con otras prácticas de manejo (Görgen et al., 2011). Por tanto, las empresas de productos biológicos a base de *Trichoderma* sp. deben hacer cada vez más énfasis en la difusión de prácticas que no solo garanticen un mejor desempeño del agente de biocontrol, sino que también puedan garantizar una mayor eficiencia en el manejo de la enfermedad.

## Interacciones entre *Trichoderma* spp. y la microbiota nativa e introducida

Al aplicar *Trichoderma* spp. en el agroecosistema, se debe considerar que el organismo no está siendo introducido en un ambiente axénico y el impacto en la microbiota nativa o introducida puede ser beneficioso, nocivo o neutro y estas interacciones determinan el éxito del control biológico.

Si por un lado ya observamos interacciones negativas en ensayos de campo, es decir, la introducción de *Trichoderma* spp. induce a una nodulación desfavorable, por regla general la interacción es beneficiosa, es decir, la introducción de *Trichoderma* spp. mejora las interacciones beneficiosas (Woo; Pepe, 2018). Cuando se coinoculan bacterias fijadoras de nitrógeno con *Trichoderma* sp., existe una sinergia en la protección contra los fitopatógenos (Ayoubi et al., 2012) y la nutrición de las plantas (Rudresh et al., 2005) lo que resulta en la promoción del crecimiento de las plantas.

Cuando las plantas de maíz fueron tratadas con *T. harzianum*, se observó tanto la reducción en la supervivencia de *Fusarium graminearum* como el favorecimiento de las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (Saravanakumar et al., 2017).

Los análisis de toda la comunidad microbiana a través de la secuenciación de ADN, también llamados análisis de microbioma son cada vez más accesibles tanto desde el punto



de vista de la facilidad de uso como del costo. Con ello, su uso en el control biológico se está incrementando desde la prospección de aislados prometedores hasta la evaluación del impacto de la introducción de especies antagonistas. Así, es posible construir un portafolio que combine agentes de biocontrol con microorganismos benéficos obtenidos a partir de las áreas donde la introducción del bioproducto fue exitosa en el control de la enfermedad.

### **Interacciones entre los plaguicidas y *Trichoderma* spp.**

La resistencia de los patógenos a los productos químicos, debido al mal uso y al uso excesivo de estos principios activos, refuerza la necesidad de la incorporación de nuevas herramientas en el manejo integrado en los agroecosistemas. Una posible solución a estos problemas fitosanitarios es integrar el uso de productos químicos y biológicos para obtener eficiencia tanto en el control de blancos biológicos específicos, como para intervenir en el manejo de la resistencia de las plantas a patógenos y en la resistencia de patógenos a los productos químicos.

Algunos plaguicidas utilizados en agricultura, como fungicidas, insecticidas, herbicidas y algunas fuentes de nutrientes pueden actuar negativamente sobre las especies de *Trichoderma*, afectando el crecimiento micelial o degradando sus metabolitos secundarios (Waghunde et al., 2016). Por el contrario, otros plaguicidas pueden actuar de manera compatible, sin afectar el crecimiento, desarrollo, esporulación y producción de metabolitos por las especies de *Trichoderma* (Lobo Junior et al., 2009). La compatibilidad de *Trichoderma* spp. con productos químicos hace que este agente de control biológico sea prometedor en el manejo integrado de enfermedades, además de ser un aliado en el manejo de la resistencia a las enfermedades de plantas (Dias Neto, 2014).

Los fungicidas compatibles permiten controlar el patógeno sin interferir con *Trichoderma*. Los experimentos de campo mostraron que un aislado de *T. harzianum* pudo crecer en semillas de frijol tratadas con fludioxonil (Lobo Junior et al., 2009). Además, los esclerocios de *Sclerotinia minor* y *S. sclerotiorum* fueron micoparasitados por aislamientos de *Trichoderma* spp. en presencia de fungicidas (Silva et al., 2018b). Algunas especies de *Trichoderma* pueden colonizar suelos tratados con fungicidas más rápidamente que otros antagonistas (Oros et al., 2011).

En general, algunos principios activos de fungicidas pueden tener un efecto negativo sobre el crecimiento micelial de *Trichoderma* spp. (Pandolfo, 2007; Singh et al., 2014). Con relación a los insecticidas y fuentes de nutrientes, debido a que estas formulaciones no tienen acción directa como fungicidas, tienen un papel sobre *Trichoderma* spp., pues normalmente tienen poco efecto, y solo sobre el crecimiento micelial (Thiruchchelvan et al., 2013). Si bien los herbicidas actúan sobre la producción de esporas, sin embargo, la mayoría de las moléculas son normalmente compatibles (Santoro et al., 2014).

Como se describe en el Capítulo 12, las evaluaciones de compatibilidad de productos químicos con *Trichoderma* aún requieren la estandarización de las metodologías de manera de garantizar también la estandarización de resultados. En este sentido, es necesario cuantificar no solo el crecimiento micelial, sino también la conidiogénesis, la germinación de conidios y el efecto sobre los mecanismos de acción de *Trichoderma*, como micoparasitismo, antibiosis, competencia, promoción del crecimiento e inducción de la resistencia. También es necesario evaluar el efecto residual de los fungicidas y otros productos utilizados en cosechas anteriores en diferentes nichos de colonización y supervivencia de *Trichoderma* spp.

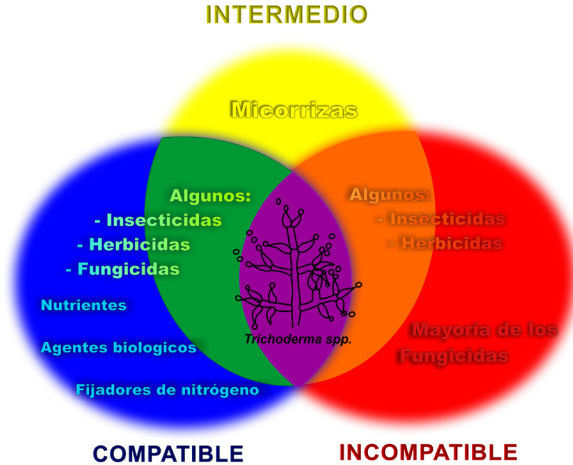
La información sobre la compatibilidad de formulaciones hechas a base de *Trichoderma* spp. con diferentes pesticidas debe ser suministrada por las empresas que fabrican los productos, ya que cada aislado tiene características únicas y peculiares. Normalmente, la aplicación de estos productos con fungicidas debe realizarse entre 10 y 15 días antes o después de la aplicación de fungicidas químicos.

### **Sinergia entre *Trichoderma* con otras prácticas de manejo**

Los hongos pertenecientes al género *Trichoderma*, además de ser conocidos por ser biofungicidas, también pueden clasificarse como biofertilizantes, bioestimulantes e inductores de resistencia frente a estreses bióticos y abióticos. El resultado de todas estas interacciones suele ser la promoción del crecimiento (Woo; Pepe, 2018), es decir, incluso cuando no existe la enfermedad, cuando se utiliza el producto, el productor tendrá el beneficio de incrementar la eficiencia de uso de los nutrientes y consecuentemente la productividad. La aplicación de ciertos aislados de *Trichoderma* spp. en el suelo puede modificar la arquitectura de las raíces, aumentando el área de absorción y la translocación de nutrientes. El efecto de la interacción “planta-*Trichoderma*-nutrientes” generalmente resulta en la promoción del crecimiento, ya que el hongo actúa en la solubilización de fósforo y de micronutrientes. Los mecanismos de *Trichoderma* spp. que participan en la promoción del crecimiento incluyen la producción de sideróforos, metabolitos secundarios y hormonas (Altomare et al., 1999; Mendoza-Mendoza et al., 2018).

Los hongos del género *Trichoderma* se pueden utilizar en combinación con diferentes especies del género (Kumar et al., 2014) o con otros agentes de biocontrol, como *Bacillus* spp. (Wu et al., 2018) y tienen una relación intermedia (dependiendo de las especies asociadas) con hongos micorrízicos arbusculares (Szczałba et al., 2019). Las especies de *Trichoderma* son responsables de producir más de 250 metabolitos secundarios, los cuales pueden afectar la respuesta de otros microorganismos benéficos y así mejorar los mecanismos de defensa involucrados. Se han obtenido buenos resultados en coinoculaciones de *Trichoderma* spp. con bacterias fijadoras de nitrógeno, como *Rhizobium* spp. (Das et al., 2017), las cuales muestran

compatibilidad en el campo, pero las interacciones específicas deben ser estudiadas con mayor detalle. En el diagrama de Venn (Figura 2) se representan las posibles interacciones compatibles, incompatibles e intermedias en relación con las especies de *Trichoderma*.



**Figura 2.** Diagrama de Venn que representa la posible compatibilidad, incompatibilidad y relaciones intermedias entre diferentes especies de *Trichoderma* en relación con los insumos utilizados en los agroecosistemas.

### Mejoramiento de *Trichoderma* sp.

Para superar la limitación de compatibilidad o relación de eficiencia dependiente de las condiciones ambientales, es posible utilizar una mezcla de aislamientos en un solo producto o adoptar técnicas para el mejoramiento del aislado.

Existen ventajas y desventajas en cada una de las estrategias. Si, por un lado, la mezcla de aislamientos con diferentes objetivos biológicos o el crecimiento en diferentes condiciones ambientales garantiza mayores posibilidades de éxito, hay un mayor costo involucrado ya que se debe prever una línea de producción en masa para cada organismo de manera individual. Por otro lado, la manipulación genética de los aislados representa un área promisoría que debe ser explorada para incrementar la eficiencia del biocontrol ejercido por *Trichoderma* spp.

Se han utilizado varias herramientas de manipulación genética de microorganismos para mejorar el rendimiento de aislados de importancia biotecnológica. Estas herramientas varían de acuerdo con sus principios y del objetivo deseado. Existen varios casos de aplicación de herramientas biotecnológicas para mejorar el rendimiento de los aislados de *Trichoderma* en la agricultura. Entre estas herramientas, podemos destacar la fusión de protoplastos y la

manipulación genética por mutagénesis mediante el uso de varias técnicas, incluida la edición de genes mediante el sistema CRISPR /Cas9 (Hatvani et al., 2006; Liu et al., 2015). En todos estos enfoques, el objetivo es generar aislamientos que sean más efectivos en los diferentes fenotipos beneficiosos.

### **Fusión de protoplastos**

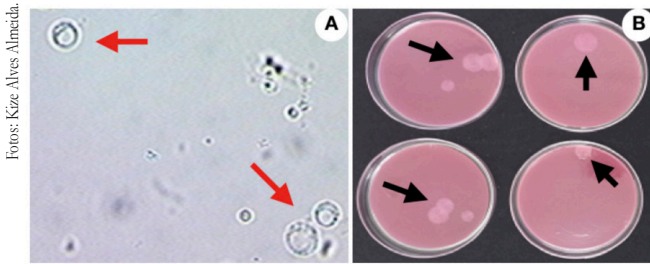
La fusión de protoplastos ha sido una importante herramienta biotecnológica utilizada para mejorar ciertas características de interés en los hongos filamentosos (Jiang et al., 2013). El principio de esta técnica se basa en la eliminación de la pared celular mediante enzimas líticas. Después de la eliminación de la pared celular, las células se vuelven permeables, lo que hace posible que los protoplastos se fusionen a partir de diferentes aislados. Los protoplastos fusionados se regeneran en un medio específico. Esta técnica es interesante porque permite la combinación de aislados o especies genéticamente diferentes. El desarrollo de individuos recombinantes mediante esta técnica puede mejorar la adaptación de estos aislados a nuevas condiciones ambientales, además de revelar nuevos fenotipos asociados con el biocontrol y promover el crecimiento de las plantas (Besoain et al., 2007; Hatvani et al., 2006; Hassan, 2014).

La estrategia de utilización de la fusión de protoplastos ha sido bien explorada en *Trichoderma*. El primer ejemplo de este tipo de transformación dentro del género fue realizado en *T. reesei*, con el objetivo de incrementar la eficiencia de producción de enzimas de interés industrial (Manczinger; Ferenczy, 1985). Además, esta estrategia permitió la selección de aislamientos con mayor velocidad de crecimiento (Pe'er; Chet, 1990), mayor antagonismo frente a fitopatógenos (Mohamed; Haggag, 2010; 2014; Pe'er; Chet, 1990), control de fitopatógenos en campo (Harman, 1998), mayor actividad de las enzimas relacionadas con efecto micoparasitario (Mohamed, 2014), aumento de la resistencia a diferentes plaguicidas (Hatvani et al., 2006), efecto de biorremediación en suelos contaminados (Tripathi et al., 2013) y mayor capacidad para colonizar la rizosfera (Sivan; Harman 1991). Además de las ventajas antes mencionadas, el uso de aislados obtenidos por fusión de protoplastos tiene la ventaja de que posible obtener el registro para su uso en campo con mayor facilidad que aquellos obtenidos por manipulación basada en la transformación genética (Tripathi et al., 2013).

Uno de los principales ejemplos de éxito en el uso de la fusión de protoplastos en *Trichoderma* fue el aislado T-22. Este aislado se obtuvo mediante la fusión de dos aislados de *T. harzianum*, con el objetivo de mejorar la competencia rizosférica (Stasz et al., 1988). El aislado T-22 mostró una mejor colonización del sistema radicular de las plantas, contribuyendo al aumento de la profundidad de las raíces en diferentes tipos de suelos

(Harman, 1998). Además, este aislado también tiene un efecto sobre la resistencia al estrés abiótico, en la inducción de la resistencia a patógenos y en la promoción del crecimiento de plantas (Harman, 2000; Harman et al., 2004).

En este contexto, el uso de la fusión de protoplastos de aislados de *Trichoderma* es ya una práctica consolidada para mejorar los efectos de este hongo. Al punto que, la búsqueda de mejores efectos en el campo puede impulsar aún más este enfoque en el futuro. En nuestro grupo estamos desarrollando aislamientos con mayor tolerancia a las bajas temperaturas (Figura 3).



**Figura 3.** Mejoramiento de *Trichoderma* mediante fusión de protoplastos. Protoplastos en medio líquido son indicados por flechas rojas (A). Colonias en medio de regeneración son indicadas por flechas negras (B).

### Sistema de edición del genoma a través de CRISPR

En las últimas décadas se han realizado varios esfuerzos para generar nuevas estrategias eficientes en la manipulación genética de hongos filamentosos, como una forma de mejorar su potencial biotecnológico (Jiang et al., 2013). Incluso bajo diferentes enfoques, la eficiencia de recombinación ha sido baja, lo que limita la selección de nuevos aislados con mejores fenotipos. El sistema CRISPR-Cas9 (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) descrito originalmente en bacterias y archaeas (Barrangou et al., 2007) se utiliza como una herramienta para la edición genómica en varios organismos (Jinek et al., 2012; Doudna; Charpentier, 2014; Nissim et al., 2014; Sander; Joung, 2014; Schuster et al., 2016). A través de esta herramienta es posible realizar cambios específicos en genes objetivo, de manera eficiente y rápida. Debido a esto, este enfoque ha ganado visibilidad, convirtiéndose en la herramienta de edición del genoma más popular en la actualidad (Liu et al., 2015; Pohl et al., 2016). Esta aplicación ha sido utilizada con éxito en la edición de genomas de células eucariotas y su uso ha ido aumentando en hongos filamentosos (Nødvig et al., 2015; Schuster et al., 2016; Pohl et al., 2016). Hasta el momento, *Trichoderma reesei* es la única especie en la que se utilizó el sistema de edición CRISPR/Cas9 para inducir cambios funcionales

con el fin de mejorar su potencial biotecnológico (Liu et al., 2015). Enfoques como este tienen el potencial de aumentar la eficiencia de las características existentes en los aislados de *Trichoderma* para asegurar un mejor rendimiento de estos aislados en el campo. En este sentido, el gran desafío es identificar genes objetivo, que estén ligados a características de interés y que puedan manipularse con el sistema CRISPR/Cas9. Además de las posibilidades ya mencionadas, CRISPR/Cas9 puede ser utilizado en estudios de caracterización funcional de genes de interés relacionados con diferentes aspectos de la interacción microorganismo-planta, permitiendo mayor comprensión de los aspectos involucrados en esta interacción (Yi et al., 2018).

Todo el potencial del uso del sistema CRISPR/Cas9 hace posible que este enfoque se convierta en una tendencia en el futuro para mejorar el rendimiento de los aislados de *Trichoderma* en el control biológico de enfermedades y la promoción del crecimiento de las plantas.

## Referencias

- AGROFIT: consulta abierta: produtos formulados. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponible en: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acceso el: 20 feb. 2019.
- AL-HAZMI, A. S.; TARIQJAVEED, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, n. 2, p. 288-292, 2016.
- ALTMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKMANN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.
- AYOUBI, N.; ZAFARI, D.; MIRABOLFATHY, M. Combination of *Trichoderma* species and *Bradyrhizobium japonicum* in control of *Phytophthora sojae* and soybean growth. **Journal of Crop Protection**, v. 1, n. 1, p. 67-79, 2012.
- BARRANGOU, R.; FREMAUX, C.; DEVEAU, H.; RICHARDS, M.; BOYAVAL, P.; MOINEAU, S.; HORVATH, P. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. **Science**, v. 315, n. 5819, p. 1709-1712, 2007.
- BESOAIN, X. A.; PÉREZ, L. M.; ARAYA, A.; LEFEVER, L.; MONTEALEGRE, J. R. New strains obtained after UV treatment and protoplast fusion of native *Trichoderma harzianum*: their biocontrol activity on *Pyrenochaeta lycopersici*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 604-617, 2007.
- BISSETT, J.; GAMS, W.; JAKLITSCH, W.; SAMUELS, G. J. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. **IMA Fungus**, v. 6, n. 2, p. 263-295, 2015.
- CARVALHO, D. D. C.; GERALDINE, A. M.; LOBO JUNIOR, M.; MELLO, S. C. M. D. Biological control of white mold by *Trichoderma harzianum* in common bean under field conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 12, p. 1220-1224, 2015.
- DAS, T.; MAHAPATRA, S.; DAS, S. In vitro compatibility study between the *Rhizobium* and native *Trichoderma* isolates from lentil rhizospheric soil. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 8, p. 1757-1769, 2017.
- DIAS NETO, J. A. **Associação e compatibilidade de produtos químicos e os fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* no manejo de fitonematoides na cultura da soja**. 2014. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul.
- DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. **Science**, v. 346, n. 6213, p. 1258096, 2014.
- FERNANDES, É. K.; RANGEL, D. E.; BRAGA, G. U.; ROBERTS, D. W. Tolerance of entomopathogenic fungi to ultraviolet radiation: a review on screening of strains and their formulation. **Current Genetics**, v. 61, n. 3, p. 427-440, 2015.

- FORTES, F. de; SILVA, A. C. F. da; ALMANÇA, M. A. K.; TEDESCO, S. B. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore**, v. 31, n. 2, 2007. DOI: 10.1590/S0100-67622007000200004.
- GAL-HEMED, I.; ATANASOVA, L.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. S.; VITERBO, A.; YARDEN, O. Marine isolates of *Trichoderma* spp. as potential halotolerant agents of biological control for arid-zone agriculture. **Applied Environmental Microbiology**, v. 77, n. 15, p. 5100-5109, 2011.
- GERALDINE, A. M.; LOPES, F. A. C.; CARVALHO, D. D. C.; BARBOSA, E. T.; RODRIGUES, A. R.; BRANDÃO, R. S.; JUNIOR, M. I. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. **Biological Control**, v. 67, n. 3, p. 308-316, 2013.
- GÖRGEN, C. A.; CIVARDI, E. A.; RAGAGNIN, V. A.; SILVEIRA NETO, A. N. da; CARNEIRO, L. C.; LOBO JUNIOR, M. Redução do inóculo inicial de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja cultivada após uso do sistema Santa Fé. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 10, p. 1102-1108, 2011.
- HANADA, R. E.; SOUZA, T. J. de; POMELLA, A. W.; HEBBAR, K. P.; PEREIRA, J. O.; ISMAIEL, A.; SAMUELS, G. J. *Trichoderma martiale* sp. nov., a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control. **Mycological Research**, v. 112, n. 11, p. 1335-1343, 2008.
- HANNUSCH, D. J.; BOLAND, G. J. Influence of air temperature and relative humidity on biological control of white mold of bean (*Sclerotinia sclerotiorum*). **Phytopathology**, v. 86, n. 2, p. 156-162, 1996.
- HARMAN, G. E. Potential, and existing uses of *Trichoderma* and *Gliocladium* for plant disease control and plant growth enhancement. **Trichoderma and Gliocladium**, v. 2, p. 229-265, 1998.
- HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43, 2004.
- HASSAN, M. M. Influence of protoplast fusion between two *Trichoderma* spp. on extracellular enzymes production and antagonistic activity. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 28, n. 6, p. 1014-1023, 2014.
- HATVANI, L.; MANCZINGER, L.; KREDICS, L.; SZEKERES, A.; ANTAL, Z.; VÁGVÖLGYI, C. Production of *Trichoderma* strains with pesticide-polyresistance by mutagenesis and protoplast fusion. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 89, n. 3-4, p. 387-393, 2006.
- JESUS, E. P. de; SOUZA, C. H. E. de; POMELLA, A. W. V.; COSTA, R. L. da; SEIXAS, L.; SILVA, R. B. da. Avaliação do potencial de *Trichoderma asperellum* como condicionador de substrato para a produção de mudas de café. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**, v. 2, n. 2, p. 111-126, 2011.
- JIANG, D.; ZHU, W.; WANG, Y.; SUN, C.; ZHANG, K. Q.; YANG, J. Molecular tools for functional genomics in filamentous fungi: recent advances and new strategies. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 8, p. 1562-1574, 2013.
- JINEK, M.; CHYLINSKI, K.; FONFARA, I.; HAUER, M.; DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive. **Bacterial Immunity Science**, v. 337, n. 6096, p. 816-821, 2012.
- JÚNIOR, P.; TEIXEIRA, H.; VIEIRA, R. F.; MORANDI, M. A. B.; LEHNER, M. D. S.; LIMA, R. C.; CARNEIRO, J. E. D. S. Limitations in controlling white mold on common beans with *Trichoderma* spp. at the fall-winter season. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 4, p. 337-340, 2012.
- KUMAR, S.; THAKUR, M.; RANI, A. *Trichoderma*: mass production, formulation, quality control, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 53, p. 3838-3852, 2014.
- LIU, R.; CHEN, L.; JIANG, Y.; ZHOU, Z.; ZOU, G. Efficient genome editing in filamentous fungus *Trichoderma reesei* using the CRIS-PR/Cas9 system. **Cell Discovery**, v. 1, p. 15007, 2015.
- LOBO JUNIOR, M.; GERALDINE, A.; DE CARVALHO, D. D. **Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* spp., na cultura do feijoeiro comum**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2009. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica, 85).
- LÓPEZ-BUCIO, J.; PELAGIO-FLORES, R.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 109-123, 2015.



- MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; VENTURA, G. M.; SANFUENTES, E. A. Encapsulamento de *Trichoderma inhamatum* para o controle biológico de *Rhizoctonia solani* na propagação clonal de *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 101-105, 2003.
- MANCZINGER, L.; FERENCZY, L. Somatic cell fusion of *Trichoderma reesei* resulting in new genetic combinations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 1, p. 72-76, 1985.
- MEDEIROS, F. H. V.; POMELLA, A. W. V.; DE SOUZA, J. T.; NIELLA, G. R.; VALLE, R.; BATEMAN, R. P.; HEBBAR, P. K. A novel, integrated method for management of witches' broom disease in Cacao in Bahia, Brazil. **Crop Protection**, v. 29, n. 7, p. 704-711, 2010.
- MEDEIROS, H. A. de; ARAÚJO FILHO, J. V. de; FREITAS, L. G. de; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. **Scientific Reports**, v. 7, n. 40216, 2017.
- MENDOZA-MENDOZA, A.; ZAID, R.; LAWRY, R.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; HORWITZ, B. A.; MUKHERJEE, P. K. Molecular dialogues between *Trichoderma* and roots: role of the fungal secretome. **Fungal Biology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 62-85, 2018.
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMA, C. M. (Ed.). **Ensaio cooperativos de controle químico de mofo branco na cultura da soja: safras 2009 a 2012**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100 p. (Embrapa Soja. Documentos, 345).
- MONTERO-BARRIENTOS, M.; HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Functional analysis of the *Trichoderma harzianum* nox1 gene, encoding an NADPH oxidase, relates production of reactive oxygen species to specific biocontrol activity against *Pythium ultimum*. **Applied Environmental Microbiology**, v. 77, n. 9, p. 3009-3016, 2011.
- MOHAMED, H. A. A.; HAGGAG, W. M. Mutagenesis and inter-specific protoplast fusion between *Trichoderma koningii* and *Trichoderma reesei* for biocontrol improvement. **American Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 13, p. 504-515, 2010.
- MOHAMED, M. H. Influence of protoplast fusion between two *Trichoderma* spp. on extracellular enzymes production and antagonistic activity. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 28, n. 6, p. 1014-1023, 2014. DOI: 10.1080/13102818.2014.978206.
- MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SCHMOLL, M.; KENERLEY, C. M. *Trichoderma* research in the genome era. **Annual Review of Phytopathology**, v. 51, p. 105-129, 2013.
- NIETO-JACOBO, M. F.; STEYAERT, J. M.; SALAZAR-BADILLO, F. B.; NGUYEN, D. V.; ROSTÁS, M.; BRAITHWAITE, M.; MENDOZA-MENDOZA, A. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 102, 2017.
- NISSIM, I.; PERLI, S. D.; FRIDKIN, A.; PEREZ-PINERA, P.; LU, T. K. Multiplexed and programmable regulation of gene networks with an integrated RNA and CRISPR/Cas toolkit in human cells. **Molecular Cell**, v. 54, n. 4, p. 698-710, 2014.
- NØDVIK, C. S.; NIELSEN, J. B.; KOGLE, M. E.; MORTENSEN, U. H. A CRISPR-Cas9 system for genetic engineering of filamentous fungi. **PLoS One**, v. 10, n. 7, e0133085, 2015.
- OROS, G.; NAÁR, Z.; CSERHÁTI, T. Growth response of *Trichoderma* species to organic solvents. **Molecular Informatics**, v. 30, n. 2 3, p. 276-285, 2011.
- PANDOLFO, J. D. **Associação de *Trichoderma* sp. e fungicidas no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. 67 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- PAZ, Z.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. S.; AVESKAMP, M. M.; SHNAIDERMAN, A.; ALUMA, Y.; YARDEN, O. Diversity and potential antifungal properties of fungi associated with a Mediterranean sponge. **Fungal Diversity**, v. 42, n. 1, p. 17-26, 2010.
- PE'ER, S.; CHET, I. *Trichoderma* protoplast fusion: a tool for improving biocontrol agents. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 6-9, 1990.
- PINTO, Z. V.; WEILER, C. A.; MORANDI, M. A. B.; LUCON, C. M. M.; BETIOL, W. Controle de qualidade de produtos biológicos a base de fungos. In: MEDEIROS, F. H. V.; SILVA JÚNIOR, M. B. da; PEREIRA, P. de F.; CARDOSO, A. M. S.; FARIA, A. F. de; GADA-GA, S. J. C.; LIMA, P. P.; JULIATTI, B. C. M.; LUZ, A. L. F.; SANTOS, G. de S.; NICOLLI, C. P. (Ed.). **Controle biológico de doenças de plantas: integrando técnicas para entregar resultados**. Lavras: UFLA, 2016. p. 103-122. Disponível em: < <http://www.nucleoestudo.ufla.br/neft/livros/livro-2016.pdf> >. Acesso em: 08 ago. 2019.



- POHL, C.; KIEL, J. A. K. W.; DRIESSEN, A. J. M.; BOVENBERG, R. A. L.; NYGARD, Y. CRISPR/Cas9 based genome editing of *Penicillium chrysogenum*. **ACS Synthetic Biology**, v. 5, n. 7, p. 754-764, 2016.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas - uma visão empresarial. In: BETTIOL W.; MORANDI, M. A. R. **Biocontrol de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio ambiente, p. 241-244, 2009.
- RUDRESH, D. L.; SHIVAPRAKASH, M. K.; PRASAD, R. D. Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). **Applied Soil Ecology**, v. 28, n. 2, p. 139-146, 2005.
- SANDER, J. D.; JOUNG, J. K. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. **Nature Biotechnology**, v. 32, n. 4, p. 347, 2014.
- SANTORO, P. H.; CAVAGUCHI, S. A.; ALEXANDRE, T. M.; ZORZETTI, J.; NEVES, P. M. O. J. In vitro sensitivity of antagonistic *Trichoderma atroviride* to herbicides. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 2, p. 238-243, 2014.
- SARAVANAKUMAR, K., LI, Y.; YU, C.; WANG, Q. Q.; WANG, M.; SUN, J.; CHEN, J. Effect of *Trichoderma harzianum* on maize rhizosphere microbiome and biocontrol of *Fusarium* stalk rot. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, article 1771, 2017.
- SCHUSTER, M.; SCHWEIZER, G.; REISSMANN, S.; KAHMANN, R. Genome editing in *Ustilago maydis* using the CRISPR-Cas system. **Fungal Genetics and Biology**, v. 89, p. 3-9, 2016.
- SILVA, J. C. P. D.; MEDEIROS, F. H. V. D.; CAMPOS, V. P. Building soil suppressiveness against plant-parasitic nematodes. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28, n. 5, p. 423-445, 2018a.
- SILVA, M. A. F. D.; MOURA, K. E. D.; MOURA, K. E. D.; SALOMÃO, D.; PATRICIO, F. R. A. Compatibility of *Trichoderma* isolates with pesticides used in lettuce crop. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 2, p. 137-142, 2018b.
- SINGH, M.; SHARMA, O. P.; BHAGAT, S. Compatibility of promising *Trichoderma* spp. with pesticides. **Pesticide Research Journal**, v. 26, n. 2, p. 217-220, 2014.
- SIVAN, A.; HARMAN, G. E. Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. **Microbiology**, v. 137, n. 1, p. 23-29, 1991.
- STASZ, T. E.; HARMAN, G. E.; WEEDEN, N. F. Protoplast preparation and fusion in two biocontrol strains of *Trichoderma harzianum*. **Mycologia**, v. 80, n. 2, p. 141-150, 1988.
- SZCZALBA, M.; KOPTA, T.; G STOL, M.; S KARA, A. Comprehensive insight into arbuscular mycorrhizal fungi, *Trichoderma* spp. and plant multilevel interactions with emphasis on biostimulation of horticultural crops. **Journal of Applied Microbiology**, v. 127, n. 3, p. 617-952, 2019.
- THIRUCHCHELVAN, N.; MIKUNTHAN, G.; THIRUKKUMARAN, G.; PAKEERATHAN, K. Effect of insecticides on bioagent *Trichoderma harzianum* rifai under *in vitro* condition. **American-Eurasian Journal Agricultural & Environmental Science**, v. 13, n. 10, p. 1357-1360, 2013.
- TRIPATHI, P.; SINGH, P. C.; MISHRA, A.; CHAUHAN, P. S.; DWIVEDI, S.; BAIS, R. T.; TRIPATHI, R. D. *Trichoderma*: a potential bioremediatory for environmental cleanup. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 15, n. 4, p. 541-550, 2013.
- WAGHUNDE, R. R.; SHELAKE, R. M.; SABALPARA, A. N. *Trichoderma*: a significant fungus for agriculture and environment. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 22, p. 1952-1965, 2016.
- WOO, S. L.; PEPE, O. Microbial consortia: promising probiotics as plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, article 1801, 2018.
- WU, Q.; NI, M.; DOU, K.; TANG, J.; REN, J.; YU, C.; CHEN, J. Co-culture of *Bacillus amyloliquefaciens* ACCC11060 and *Trichoderma asperellum* GDFS1009 enhanced pathogen-inhibition and amino acid yield. **Microbial Cell Factories**, v. 17, n. 1, article 155, 2018.
- YI, Y.; LI, Z.; SONG, C.; KUIPERS, O. P. Exploring plant microbe interactions of the rhizobacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus mycoides* by use of the CRISPR Cas9 system. **Environmental Microbiology**, v. 20, n. 12, p. 4245-4260, 2018.

# Inducción de la resistencia por *Trichoderma*

*Sérgio Florentino Pascholati*

*Victor Hugo Moura de Souza*

*Júlio Alves Cardoso Filho*

## Nociones sobre la inducción de resistencia

Los organismos fitopatógenos siguen siendo importantes desafíos para la agricultura mundial. Por ejemplo, *Phytophthora infestans* fue el primer agente causante de enfermedades en plantas descrito por Anton de Bary en 1845 (Bergamim Filho; Kitajima, 2018). En su momento, el agente causante del tizón tardío en Irlanda arrasó con la producción de papa del país y generó graves problemas sociales. Aunque en un escenario menos devastador, *P. infestans* es un buen ejemplo de la importancia de los fitopatógenos, siendo hoy en día una amenaza constante para la seguridad alimentaria mundial (Kamoun et al., 2015).

Se ha demostrado que la rotación de cultivos, el mejoramiento de variedades resistentes y la aplicación de plaguicidas son insuficientes para controlar algunas enfermedades importantes en cultivos (Choudhary et al., 2007). La inducción de resistencia surge como una herramienta para agregar en este escenario. La noción de que las plantas pueden defenderse activamente y tener su resistencia inducida contra fitopatógenos se conoce desde hace más de 100 años (Hammerschmidt, 2007). Según Choudhary et al. (2007), la inducción de resistencia es un “estado fisiológico de aumento de la capacidad de defensa”, activado por estímulos específicos, a través del cual se potencia la defensa innata de la planta frente a desafíos bióticos (Figura 1). La posibilidad de activar los genes responsables de estos mecanismos de resistencia abrió la puerta a estudios que involucran el fenómeno de inducción de resistencia en plantas (Pascholati; Dalio, 2018).

La inducción de resistencia ha sido reportada en numerosas especies botánicas, incluidas la papa, café, cebada, clavel, frijol, tabaco, manzana, sandía, melón, pepino, pera, soja, tomate

y la vid (Pascholati; Dalio, 2018). La inducción protección o inmunidad adquirida implica la activación de mecanismos de resistencia latente en una planta mediante tratamientos con agentes externos, que pueden ser bióticos (p. ej., microorganismos viables o inactivados) o abióticos (p. ej., metales pesados y acibenzolar-S-metilo), sin alteración de su genoma (Cavalcanti et al., 2005).

Hay dos formas que involucran la inducción de la resistencia: resistencia sistémica adquirida (SAR) y resistencia sistémica inducida (ISR). Aunque fenotípicamente son similares, estos fenómenos se pueden distinguir tanto por la naturaleza del agente inductor como por las vías de señalización hormonal que están involucradas (Choudhary et al., 2007). La SAR está mediada por el ácido salicílico y generalmente está relacionada con la exposición a patógenos biotróficos virulentos, avirulentos o microorganismos no patógenos. La activación de esta vía culmina con la acumulación de proteínas relacionadas con la patogénesis (proteínas-PR), como la quitinasa y la glucanasa. La ISR, por su parte, está mediada por las hormonas ácido jasmónico y etileno y está asociada con rizobacterias o microorganismos rizosféricos. La ISR es una vía no dependiente del ácido salicílico y no da como resultado la acumulación de proteínas PR.

En el contexto de la inducción de resistencia, a principios de la década del 2000, se demostró el fenómeno de *priming* o “cebado”. Este fenómeno está íntimamente relacionado con la inducción de resistencia y consiste en la potenciación de las respuestas bioquímicas y moleculares de las plantas, a través del preacondicionamiento/sensibilización (“*priming*”) frente a la subsecuente infección por patógenos (Conrath et al., 2002; Pascholati; Dalio, 2018). El cebado es una parte integral del fenómeno de la resistencia de plantas frente a los estreses bióticos y abióticos, lo que permite que las plantas activen sus respuestas de defensa de manera más rápida y/o efectiva cuando son atacadas por estos agentes. Recientemente se ha reportado el llamado “estado de cebado transgeneracional”, que ocurre en plantas parentales preacondicionadas, y este fenómeno aparentemente pasa epigenéticamente a su descendencia (Ramírez-Carrasco et al., 2017; Pascholati; Dalio, 2018).

Desde su descubrimiento, numerosos estudios se han dedicado a aclarar las bases moleculares del fenómeno de cebado, aportando nuevas evidencias y explicaciones sobre esta importante respuesta a los patógenos. Schwachtje et al. (2019) presentaron un concepto sistemático de las respuestas metabólicas que son inducidas por el estrés y que persisten en la planta. Estas “huellas metabólicas” pueden mantener a la planta en un estado de cebado a estreses ulteriores. Los datos obtenidos indican que las plantas forman un “historial diverso e integrado de estreses ambientales” (*integrated diverse environmental stress histories*), basado en *imprints* metabólicos y otros factores, como el propio “cebado”.

Estos hechos demuestran la complejidad del fenómeno del cebado, el cual es importante para el desarrollo de nuevos conceptos en el control de enfermedades. Además, proporciona

resistencia de amplio espectro sin afectar significativamente el crecimiento y la producción de plantas o semillas (Karasov et al., 2017; Mauch-Mani et al., 2017; Pascholati; Dalio, 2018).

### **Inducción de la resistencia por microorganismos de la rizosfera**

La rizosfera de la planta se refiere a la región alrededor de las raíces, la cual es de aproximadamente de 1 a 3 mm, que está moldeada/influenciada por la propia raíz y sus exudados (Sasse et al., 2018). Este microambiente es colonizado masivamente por varios microorganismos, los cuales alcanzan densidades celulares muy superiores al número de células vegetales (Mendes et al., 2013). Estas comunidades microbianas, residentes de la rizosfera, juegan un papel fundamental en el funcionamiento de las plantas, actuando en su fisiología y desarrollo (Lucy et al., 2004; Mendes et al., 2013; Sasse et al., 2018).

Entre los microorganismos rizosféricos también se encuentran algunos fitopatógenos. Sin embargo, gran parte de la microbiota de la rizosfera actúa como supresores de este tipo de agentes, mediante el control directo de los fitopatógenos o mejorando las capacidades de defensa de las plantas, la cual consiste en la inducción de la resistencia (Bakker et al., 2007; Bakker et al., 2013). Debido a esta actuación, muchos de estos microorganismos que habitan en la rizosfera han sido estudiados, especialmente bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias promotoras del crecimiento, hongos micorrízicos, hongos micoparásitos, entre otros (Mendes et al., 2013; Schouteden et al., 2015; Medeiros et al., 2018).

Las bacterias rizofíticas o rizobacterias son abundantes en la superficie de las raíces de las plantas, alimentándose de los exudados y otros compuestos liberados por las especies vegetales (Lucy et al., 2004). Las rizobacterias pueden colonizar plantas de diferentes especies botánicas y tener un efecto supresor contra varios fitopatógenos, además de promover el crecimiento de las plantas (Kloepper et al., 2004).

La capacidad de las rizobacterias para activar la resistencia de las plantas se conoce desde principios de la década de 1990, cuando se aislaron *Pseudomonas* spp. que eran capaces de reducir las enfermedades de las plantas, incluso cuando se mantuvieron separadas espacialmente del patógeno (Van Peer et al., 1991; Wei, 1991).

Muchas de las rizobacterias también actúan en la denominada “inducción de la tolerancia sistémica” (del inglés “*induced systemic tolerance*”), en la cual estos microorganismos aumentan la tolerancia de las plantas a la salinidad y al estrés hídrico (Yang et al., 2009). Según estos autores, las rizobacterias también pueden mejorar la capacidad de absorción de nutrientes del suelo por la planta, lo que podría reducir la necesidad de agregar fertilizantes y evitar la acumulación de nitrato y fosfato en los suelos agrícolas.

A partir de los primeros trabajos publicados, se han documentado cientos de estudios que verifican la inducción de resistencia y la promoción del crecimiento mediado por rizobacterias,

en monocotiledóneas y dicotiledóneas (Pieterse et al., 2014). El fenómeno de la resistencia inducida por rizobacterias ha sido reportado tanto para patógenos fúngicos (Kloepper et al., 2004) y bacterianos (Ramamoorthy et al., 2001), así como nematodos fitoparásitos (De Souza et al., 2015), virus (Samaniego-Gómez et al., 2017) e artrópodos plaga (Kloepper et al., 2004). No solo las células bacterianas, sino sus constituyentes están involucrados en el fenómeno de inducción de resistencia, como los lipopolisacáridos, los sideróforos y el ácido salicílico (Wei, 1991; Ramamoorthy et al., 2001; Mauch-Mani et al., 2017).

Al igual que las bacterias rizosféricas, diversos organismos fúngicos muestran la capacidad de activar el sistema de defensa de las plantas, aun cuando sean filogenéticamente diferentes entre sí. Entre estos hongos rizosféricos se encuentran los hongos micorrízicos y los hongos promotores del crecimiento, y también se pueden encontrar algunos patógenos fúngicos hipovirulentos o avirulentos (Bent, 2006; Mauch-Mani et al., 2017). Entre los aislamientos no patogénicos más estudiados destacan *Fusarium* spp., *Piriformospora indica*, hongos micorrízicos arbusculares del filo *Glomeromycota* y varias especies de *Trichoderma* (Kloepper et al., 2004; Pieterse et al., 2014; Mauch-Mani et al., 2017).

La simbiosis micorrízica es una relación mutualista entre plantas y hongos micorrízicos, donde, durante la interacción, la planta proporciona productos fotosintéticos que son intercambiados por nutrientes y minerales, capturados del suelo por los hongos (Smith; Read, 2010). Esta íntima relación entre plantas y hongos es probablemente la simbiosis más extendida en el mundo, y han sido observado en fósiles que datan de hace 450 millones de años, lo que ilustra la importancia de esta relación para ambos organismos (Jung et al., 2012; Cameron et al., 2013). El beneficio mutuo es la base del éxito evolutivo de esta relación, garantizado por un fuerte control bidireccional del mutualismo (Kiers et al., 2011). Además del intercambio benéfico entre estos organismos, la regulación de este proceso implica cambios importantes en el metabolismo de la planta, tanto primario como secundario, además de la regulación de los mecanismos de defensa. Estos cambios tienen un fuerte impacto en la fisiología de la planta, alterando su capacidad para superar diversos tipos de estrés (Jung et al., 2012).

La mayor parte de los reportes sobre la inducción de resistencia mediada por hongos micorrízicos se refieren a la supresión de agentes patógenos del suelo, como *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Thielaviopsis* sp., *Pythium* sp., además de algunos nematodos fitoparásitos, como *Rotylenchulus* spp., *Pratylenchus* spp. y *Meloidogyne* spp. (Azcón-Aguilar; Barea, 1997; Whipps, 2004; De Souza et al., 2015). Recientemente, fueron hechos los primeros reportes sobre la resistencia inducida por hongos micorrízicos contra patógenos de la parte aérea, donde por ejemplo se obtuvo la inhibición de *Alternaria solani* en tomate (Fritz et al., 2006; Pozo; Azcón-Aguilar, 2007; Schouteden et al., 2015).

Aunque la resistencia inducida es un fenómeno bien conocido, recientemente se han propuesto nuevas explicaciones. En el artículo de opinión titulado “*Mycorrhiza-induced resistance: more than the sum of its parts*” (Cameron et al., 2013), los autores proponen que la resistencia inducida por micorrizas (MIR: *mycorrhiza-induced resistance*) es un efecto acumulativo de la respuesta directa de la planta a la infección micorrícica y las respuestas inmunes indirectas a la activación de la resistencia sistémica inducida, activada por rizobacterias presentes en la micorriza (Cameron et al., 2013). Esta conceptualización revela la complejidad de las interacciones bióticas y de las señalizaciones químicas presentes en la rizosfera.

Otros hongos promotores del crecimiento incluyen hongos saprofitos no simbióticos que viven libremente en el suelo rizosférico o en la superficie de la raíz (Bent, 2006). Dentro de este grupo se encuentra el género *Trichoderma*, que es el objeto de estudio de este libro.

### **Inducción de la resistencia contra fitopatógenos mediada por *Trichoderma***

Calderón et al. (1993) reportaron las primeras evidencias de la inducción de resistencia sistémica mediada por *Trichoderma* en vid. A su vez, en un estudio publicado en 1998, se observó la inducción de la resistencia en tomate, lechuga, pimentón, frijol y tabaco, tratados con *Trichoderma harzianum* (aislado T39) para el control de *Botrytis cinerea* (De Meyer et al., 1998). La aplicación de este agente de biocontrol, aun estando separado espacialmente del patógeno, resultó en reducciones de 25 – 100% de los síntomas de moho gris, atribuidos al retraso o supresión de la formación de lesiones causadas por *B. cinerea*. Posteriormente, se publicaron numerosos reportes sobre la inducción de resistencia sistémica provocada por *Trichoderma* spp., en diversos cultivos contra diversos patógenos (Bisen et al., 2016; Woo et al., 2007). En este sentido, la Tabla 1 resume algunos estudios que contemplan la inducción de resistencia mediada por *Trichoderma* spp. para diferentes grupos de fitopatógenos. Entre estos se encuentran hongos, oomicetos, bacterias, virus y nematodos fitoparásitos. Además de los ejemplos enumerados en la Tabla 1, se detallarán algunos trabajos a lo largo de este capítulo.

La evidencia genética obtenida mediante el uso de plantas de *Arabidopsis*, resaltan la importancia del ácido jasmónico/etileno en la inducción de resistencia mediada por *T. harzianum* T39 (Korolev et al., 2008; Pieterse et al., 2014). Como se mencionó anteriormente, las hormonas ácido jasmónico y etileno son importantes reguladores del sistema inmunológico de la planta (Choudhary; Prakash; Johri, 2007; Pascholati; De Souza, 2017). Estas hormonas parecen ser dominantes en la inducción de resistencia independiente del ácido salicílico conferida por microorganismos benéficos del suelo (Pieterse et al., 2014). Sin embargo, aunque a menudo son independientes del ácido salicílico, algunos hongos que promueven el crecimiento de las plantas también pueden activar mecanismos de resistencia dependientes de esta hormona, siendo similar a la activación inducida por fitopatógenos (Pieterse et al., 2014).

**Tabla 1.** Inducción de resistencia en diferentes interacciones planta – patógeno mediada por diferentes especies/aislados de *Trichoderma*

Especie de <i>Trichoderma</i>	Fitopatógeno	Cultivo	Referencia
<b>Hongos y oomicetos</b>			
<i>T. harzianum</i>	<i>Alternaria solani</i> , <i>Phytophthora infestans</i>	Tomate	Chowdappa et al. (2013)
<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Alternaria solani</i>	Tomate	Fontenelle et al. (2011)
<i>T. hamatum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Geranio	Olson y Benson (2007)
<i>T. harzianum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Tomate	Martinez-Medina et al. (2013)
<i>T. harzianum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Tomate	Harel et al. (2014)
<i>T. harzianum</i>	<i>Curvularia lunata</i>	Maíz	Saravanakumar et al. (2016)
<i>T. harzianum</i>			
<i>T. asperellum</i>			
<i>T. atroviride</i>	<i>Colletotrichum lagenarium</i>	Pepino	Silva et al. (2012)
<i>T. strigosum</i>			
<i>T. longibrachiatum</i>			
<i>T. ovalisporum</i>			
<i>T. atroviride</i>	<i>Diplodia pinea</i>	<i>Pinus radiata</i>	Regli ski et al. (2012)
<i>T. koningiopsis</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Tomate	Suarez et al. (2009)
<i>T. virens</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Tomate	Jogaiah et al. (2018)
<i>T. viride</i>	<i>Ganoderma lucidum</i>	Cocotero	Karthikeyan et al. (2006)
<i>T. harzianum</i>			
<i>T. harzianum</i>	<i>Plasmodium viticola</i>	Vid	Perazzolli et al. (2008; 2011)
<i>T. harzianum</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	Pimentón	Ahmed et al. (2000)
<i>T. hamatum</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	Pepino	Khan et al. (2004)
<i>T. harzianum</i>	<i>Puccinia graminis</i> f.sp. <i>tritici</i>	Trigo	El-Sharkawy et al. (2018)
<i>T. viride</i>			
<i>T. virens</i>	<i>Pythium aphanidermatum</i>	Pimentón	Muthukumar et al. (2011)
<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Girasol	Singh et al. (2014)
<i>T. asperellum</i>			
<i>T. harzianum</i>			
<i>T. atroviride</i>	<i>Sclerospora graminicola</i>	Maíz	Nandini et al. (2017)
<i>T. virens</i>			
<i>T. longibrachiatum</i>			
<i>T. brevicompactum</i>			
		<i>Brassica napus</i>	
<i>T. harzianum</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Raphanus</i>	Alkoorane et al. (2017)
		<i>alboglabra</i>	
<i>T. asperellum</i>	<i>Sclerotium rofsii</i>	Cebolla	Guzmán-Valle et al. (2014)
<i>T. asperellum</i>	<i>Sclerotium rofsii</i>	Menta negra	Muthukumar y Venkatesh (2014)

Especie de <i>Trichoderma</i>	Fitopatógeno	Cultivo	Referencia
<i>T. harzianum</i>	<i>Uromyces appendiculatus</i>	Frijol	Abeyasinghe (2009)
<b>Bacterias</b>			
<i>T. asperellum</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Lachrymans</i>	Pepino	Yedidia et al. (2003)
<i>T. asperellum</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Tomate	Konappa et al. (2018)
<i>T. hamatum</i>	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	Tomate	Alfano et al. (2007)
<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	Tomate	Fontenelle et al. (2011)
<b>Nematodos</b>			
<i>T. longibrachiatum</i>	<i>Heterodera avenae</i>	Trigo	Zhand, Gan et al. (2014)
<i>T. harzianum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Tomate	Leonetti et al. (2017)
<i>T. harzianum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Tomate	Martinez-Medina et al. (2017)
<i>T. atroviride</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Tomate	Medeiros et al. (2017)
<i>T. harzianum</i>	<i>Pratylenchus brachyurus</i>	Soja	Kath et al. (2017)
<b>Virus</b>			
<i>T. asperellum</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i>	Pepino	El-sharkawy et al. (2013)
<i>T. harzianum</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i>	Tomate	Vitti et al. (2016)

Utilizando plantas de *Arabidopsis thaliana* y marcadores genéticos relacionados con la patogénesis, se observó que *T. virens* y *T. atroviride* indujeron resistencia vía ácido salicílico y/o ácido jasmónico, la cual fue dependiente de la cantidad de conidios inoculados (Contreras-Cornejo et al., 2011). De acuerdo con estos autores, las plántulas de *Arabidopsis* cuyas raíces habían sido colonizadas por *Trichoderma*, acumularon peróxido de hidrógeno y la fitoalexina camalexina en las hojas. Los resultados del trabajo refuerzan la complejidad de la elicitación de *Trichoderma* en *Arabidopsis*, con la implicación de diferentes factores en la activación de la inmunidad de la planta.

Los hongos se incluyen entre los agentes causales de enfermedades de plantas más importantes. Dentro de esta denominación genérica se destacan los hongos verdaderos (Reino *Fungi*) y los oomicetos (Reino *Chromista*, clase *Oomycetes*) (Massola Júnior, 2018). A continuación, será descrita la inducción de resistencia promovida por *Trichoderma* sp. contra este grupo de fitopatógenos (Figura 1).



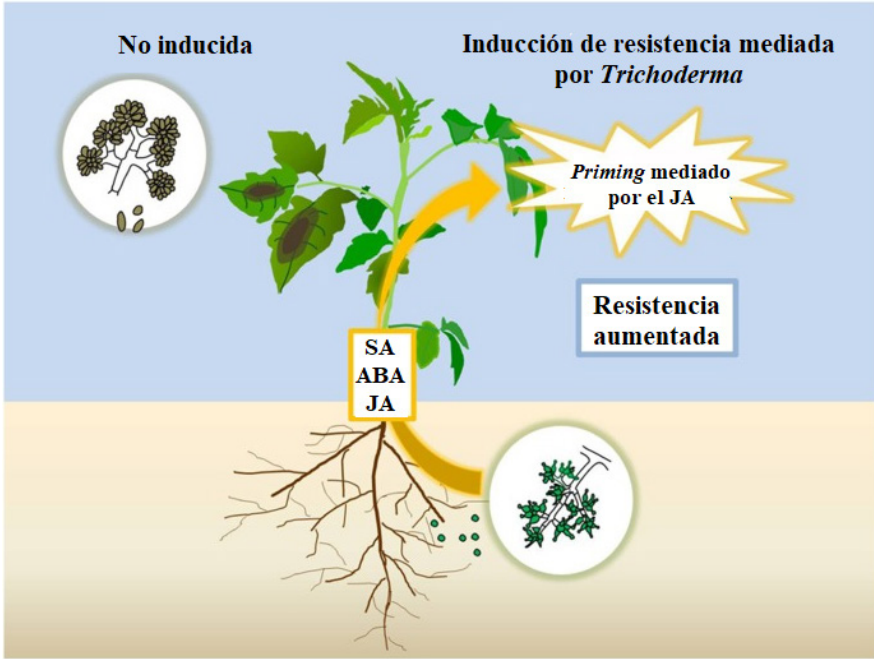


Figura 1. Modelo de resistencia inducida por *Trichoderma* sp. contra *Botrytis cinerea* en tomate (Adaptado de Martínez et al., 2013). La colonización de las raíces por *Trichoderma* induce resistencia sistémica en los tejidos de las hojas y aumenta la resistencia contra patógenos necrotróficos. Esta respuesta está mediada por el ácido jasmónico (JA), pero requiere vías de señalización del ácido salicílico (SA) y ácido abscísico (ABA) intactas para la resistencia mediada por *Trichoderma*.

Khaledi & Taheri (2016) realizaron investigaciones para comprobar el control de *Macrophomina phaseolina* en plantas de soja. Los resultados en estudios de invernadero revelaron que el tratamiento de las semillas con *Trichoderma* sp. fue más efectivo en la reducción de la severidad de la enfermedad, aun cuando el tratamiento del suelo provocó el incremento de la masa de raíces y tallos. Aunque se verificó un efecto directo de los aislados de *T. harzianum* sobre *M. phaseolina*, el aumento en el contenido fenólico y la actividad de peroxidasa sugieren que parte del control puede estar relacionado con la inducción de resistencia.

Silva et al. (2012) observaron el efecto de la aplicación de *Trichoderma* spp. en el suelo, lo que promovió la activación de la resistencia sistémica contra la antracnosis (*Colletotrichum lagenarium*) en pepino, como respuesta al ataque del patógeno en la parte aérea. En este estudio encontraron que las especies *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. strigosum*, *T. longibrachiatum*, *T. koningiopsis* y *T. ovalisporum* se presentaron como inductores de resistencia contra la antracnosis, determinada por el aumento de la actividad enzimática en plantas en invernadero.

Chowdappa et al. (2013) observaron un aumento del ácido indol-3-acético, el ácido giberélico y las enzimas relacionadas con la defensa, como la peroxidasa, la polifenol-oxidasa, en sus ensayos y superóxido dismutasa, estimuladas por la inducción de resistencia por parte de *Bacillus subtilis* y *T. harzianum* en plantas de tomate inoculadas con *A. solani* y *P. infestans*.

Guzmán-Valle et al. (2014) estudiaron la interacción de *Sclerotinia rolfsii* con variedades de cebolla y verificaron el mecanismo de inducción de resistencia por parte de *T. asperellum* a través del aumento de la actividad de las enzimas glucanasa, quitinasa y peroxidasa en raíces, bulbos y hojas. Muthukumar y Venkatesh (2014) también evaluaron el aumento de las enzimas de defensa en la planta al inocular *T. harzianum* solo o combinado con *Pseudomonas fluorescens* contra *S. rolfsii*, causante de la pudrición del cuello en toronjil o menta negra.

Khan et al. (2004) realizaron pruebas para verificar el control de *Phytophthora capsici* en pepino, utilizando *T. hamatum* (aislado T382). En bioensayos de raíz dividida, las aplicaciones de este microorganismo redujeron la severidad de la pudrición de la raíz y la corona no tratadas. Este efecto no mostró diferencias cuando el suelo fue tratado con benzotiadiazol (inductor de resistencia) o mefenoxam (fungicida sistémico). Basado en el área bajo la curva de progreso de la enfermedad, la adición de *T. hamatum* T382 al suelo también redujo la severidad del tizón tardío causado por *P. capsici*. Los resultados sugieren la naturaleza sistémica de la inducción de resistencia inducida por el aislado T382.

Muthukumar, Eswaran y Sangeeth (2011) también verificaron la inducción de resistencia por *T. viride* contra el marchitamiento de las plántulas de ají, causado por el patógeno del suelo *Pythium aphanidermatum*. En un estudio donde se combinaron diferentes mezclas de aislados de microorganismos bacterianos, fúngicos y endófitos, demostraron su efecto en la reducción de la enfermedad y en la interferencia en la actividad de las enzimas relacionadas con la defensa de las plantas.

No solo los hongos necrotróficos/hemibiotróficos pueden ser controlados por *Trichoderma* spp. Recientemente, en estudios realizados por El-Sharkawy et al. (2018), se observó el control del patógeno biotrófico *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* por hongos micorrízicos arbusculares y *Trichoderma* spp. Además de la reducción de la severidad de la enfermedad, también se reportó el aumento en la actividad de la peroxidasa, polifenol oxidasa y fenoles. De igual forma, las plantas de frijol fueron protegidas por *Trichoderma* spp. contra *Uromyces appendiculatus*, el agente causal de la roya común del frijol (Abeyasinghe, 2009).

Las bacterias fitopatógenas son factores limitantes para la agricultura mundial. Entre los procariontes fitopatógenos, destacan los géneros *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Xanthomonas* y *Xylella*, entre otros (Mansfield et al., 2012). En este sentido, Yedidia et al. (2003) verificaron el efecto de *T. asperellum* sobre la mancha angular causada por *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* en el cultivo de pepino manejado en un sistema

hidropónico. Se observó una reducción de hasta el 80% de la enfermedad, lo que se atribuyó a la acumulación de ARNm de genes ligados a la vía de los fenilpropanoides, que codifican, por ejemplo, la fenilalanina amoniaco liasa (FAL).

Alfano et al. (2007) presentaron resultados sobre el control satisfactorio de la mancha bacteriana en tomate causada por *Xanthomonas euvesicatoria*, vía inducción de la resistencia por *T. hamatum* 382, además mostraron la reducción de la población del patógeno en hojas de tomate. Los autores afirmaron que *Trichoderma* modula la expresión de genes en las hojas que están asociados con el estrés biótico, abiótico y el metabolismo del ARN, el ADN y de proteínas en las plantas. Fontenelle et al. (2011) también demostraron el potencial de *Trichoderma* spp. como inductor de resistencia frente a *Xanthomonas euvesicatoria* y *A. solani* en tomate, además comprobaron que todos los aislados estudiados eran capaces de degradar la celulosa.

La marchitez bacteriana del tomate es causada por *Ralstonia solanacearum* y es una de las enfermedades más severas en el cultivo. Konappa et al. (2018) realizaron estudios para verificar el control de *R. solanacearum* en tomate, utilizando aislados de *T. asperellum*. El tratamiento con *T. asperellum* redujo la incidencia de la enfermedad en un 51% (aislado T4) y un 52% (aislado T8), además de observar un aumento de la actividad de peroxidasa, fenilalanina amoniaco-liasa, polifenol oxidasa,  $\beta$ -1, 3-glucanasa y fenoles totales después de la inoculación del patógeno. Los resultados indicaron la participación de mecanismos de resistencia inducidos por *T. asperellum* contra *R. solanacearum* en plantas de tomate en condiciones de campo.

Las especies de nematodos formadores de agallas (*Meloidogyne* spp.) y nematodos formadores de quistes (*Heterodera* spp.) se encuentran entre las principales plagas a nivel mundial, las cuales afectan varios cultivos de importancia económica, como tomate, soja y cereales, entre otros (Jones et al., 2013). El uso de *Trichoderma* para el control de fitonematodos es frecuente, por lo que existen productos comerciales disponibles, formulados a partir de propágulos de este hongo (Agrofit, 2003c). En este sentido, dada su relevancia para el manejo de fitonematodos, en el capítulo 27 se discutirá en detalle sobre los ejemplos exitosos de control e inducción de resistencia por parte de *Trichoderma* para el control de estos fitopatógenos. No obstante, se discutirán algunos ejemplos de inducción de resistencia relacionados a los nematodos fitoparásitos.

Ensayos *in vivo* realizados por Medeiros et al. (2017) demostraron que *T. atroviride* induce resistencia sistémica en plantas de tomate contra *M. javanica*, sin necesidad de estar en contacto directo con este parásito. En los experimentos de raíz dividida, se observó una reducción significativa en el número de agallas (20%) y en el número de nematodos adultos dentro del sistema radicular (87%). Adicionalmente, aun al utilizar plantas de tomate de raíz partida tratadas y/o inoculadas con *M. javanica*, se observó que la primera generación (F1) de

plantas heredó la resistencia inducida por *T. atroviride*. Además de la resistencia al nematodo agallador, también se heredó la capacidad de promoción del crecimiento inducida por este hongo, sin alterar la resistencia al nematodo agallador. Así, se observó el efecto de “cebado” (*priming*), donde la progenie mostró un incremento en el crecimiento y la resistencia, sin costo adaptativo. Los autores también destacaron que la inducción de resistencia se produjo a través de diferentes mecanismos y niveles, según el tipo de interacción entre *M. javanica* y *T. atroviride* (por ejemplo, si *T. atroviride* y el nematodo agallador estaban separados espacialmente o habitando las mismas raíces).

Zhang et al. (2014) evaluaron la eficiencia de *T. longibrachiatum* en el control de *Heterodera avenae* en trigo. El control del nematodo del quiste fue demostrado mediante la aplicación de  $1,5 \times 10^4$  a  $1,5 \times 10^8$  esporas/mL de *Trichoderma*. También se observó un aumento en la cantidad de clorofila y en la actividad de las enzimas peroxidasa, polifenol oxidasa y fenilalanina amoníaco-liasa, todas ellas relacionadas con la defensa de la planta. Los autores concluyeron que la promoción del crecimiento vegetal y la inducción de mecanismos de defensa pueden haber sido los principales mecanismos involucrados en el control de *H. avenae* por parte de *T. longibrachiatum*, haciendo que la planta sea más competitiva.

Finalmente, algunos ejemplos disponibles en la literatura señalan la inducción de la resistencia por parte de *Trichoderma* spp. y fitovirus. Vitti et al. (2016) estudiaron la inducción de resistencia sistémica promovida por *T. harzianum* T-22 en plantas de tomate inoculadas con *Cucumber mosaic virus* (CMV). El tratamiento con T-22 redujo la severidad de la enfermedad, además de promover el crecimiento de las plantas, mejorar la fotosíntesis y aumentar la cantidad de clorofila. El análisis hormonal reveló que el tratamiento con T-22, aplicado antes o simultáneamente con la inoculación de CMV, condujo a la inducción de resistencia, vía ácido jasmónico/etileno y ácido salicílico. Esta activación también dependía del ácido abscísico cuando el tratamiento con T-22 se realizó después de la infección por CMV.

### **Categoría de registro de productos formulados a base de *Trichoderma***

La evidencia científica ha indicado que un gran número de cepas de *Trichoderma* pueden ser reconocidas como “Agentes de Control Biológico Microbiano (“*Microbial Biological Control Agents*: MBCA”) contra diversos tipos de organismos fitopatógenos, como *Meloidogyne* spp. (Jindapunnapat et al., 2013) y *Sclerotinia sclerotiorum* (Carvalho et al., 2011), a través de mecanismos como el antagonismo, la competencia, la antibiosis y/o el parasitismo (Kredics et al. 2018). Estos agentes suelen estar registrados como productos fitosanitarios (“*Plant Protection Products*: PPP”) en la Unión Europea (UE) a través del “Consejo Europeo de la Industria de Bioestimulantes” (*European Biostimulant Industry Council*: EBIC) (<http://>

www.biostimulants.eu/). Actualmente, varios países, estados y regiones administrativas han desarrollado diferentes categorías de registro de bioestimulantes potenciales, incluyendo terminologías como acondicionadores de plantas, suplementos, mejoradores de suelo, potenciadores de plantas o fitofortificantes (Yakhin et al., 2016a, b; Torre et al., 2016). Desde el punto de vista regulatorio, no existe un acuerdo global sobre la definición de los PPP. Por lo tanto, muchos países de la UE y fuera de ella carecen de un marco legal específico para registrar las PPP (Yakhin et al., 2017; Caradonia et al., 2018; Rouphael et al., 2018).

Inicialmente, esta actividad bioplaguicida fue considerado como el único beneficio para la planta atribuido a *Trichoderma* como, por ejemplo, *Trichoderma harzianum* Epl-1 (Gomes et al., 2017) y *Trichoderma harzianum* CECT 2413 (Cardoza et al., 2014)). Sin embargo, algunos informes científicos han demostrado que algunas especies de *Trichoderma* también pueden actuar como inductores de resistencia, bioestimulantes y/o biointensificadores de plantas cultivadas cuando se exponen a estreses de origen biótico o abiótico (Harman et al., 2004); Fontenelle et al., 2011 Hermosa et al., 2012; Hermosa et al., 2013; Lorito y Woo, 2015; Zeilinger et al., 2016; Fiorentino et al. 2018).

Para obtener información detallada sobre este tema, consulte el Capítulo 2 de este libro, titulado “Productos comerciales a base de *Trichoderma*”.

### ***Trichoderma* y los consorcios microbianos**

Estudios recientes han demostrado el potencial de las asociaciones de microorganismos rizosféricos y no rizosféricos como bioestimulantes de plantas o probióticos agrícolas (de Vries y Wallenstein 2017; Palmieri et al., 2017; Yakhin et al., 2017; Kong et al., 2018). Estos consorcios suelen ser asociaciones microbianas no patogénicas, como rizobacterias (Ruzzi; Aroca, 2015) y rizohongos (Hossain et al., 2017), naturales (Pérez-Jaramillo et al., 2016) o sintéticas (Barra et al., 2016) que componen y habitan el fitomicrobioma (Smith et al., 2017) o el rizomicrobioma (Rossmann et al., 2017). Estos consorcios son capaces de promover el aumento en la absorción de agua y nutrientes de la planta hospedante, así como el aumento de la tolerancia a los efectos nocivos de los factores estresantes edáficos de origen biótico (p. ej., fitopatógenos) o abiótico (p. ej., salinidad o acidez) (Ben Said; Or 2017). Debido a las múltiples especies involucradas, un consorcio microbiano tiene un pool de genes mayor que los monocultivos microbianos (Zhang; Wang 2016; Mccarty; Ledesma-Amaro 2019). Esta diversidad metabólica permite que un consorcio microbiano pueda realizar múltiples y más complejas tareas que los microorganismos aislados, utilizando de manera más eficiente los recursos nutricionales disponibles en el ambiente, además de aportar diferentes moléculas efectoras (Woo; Pepe 2018).

*Trichoderma* spp. pueden producir más de 250 productos metabólicos (ver capítulo 5), incluyendo enzimas que degradan la pared celular, péptidos, metabolitos secundarios y otras

proteínas (Patil et al., 2016). Muchos de estos compuestos son bioactivos y pueden afectar las respuestas de la planta, así como la de los microorganismos, optimizando los mecanismos de defensa y estimulando el desarrollo de las plantas, especialmente en la rizosfera (Lombardi et al., 2018).

## Consideraciones finales

De lo anteriormente expuesto, se hace notoria la riqueza de posibilidades para el descubrimiento de nuevos inductores de resistencia mediante el uso de diferentes especies/ aislados de *Trichoderma* para diferentes patosistemas, que podría contribuir al uso racional de los productos fitosanitarios tradicionales. Sin embargo, es importante estimar el impacto ecológico de la aplicación de estos nuevos inductores, así como los efectos sobre el microbioma no objetivo (fitomicrobioma y rizomicrobioma) de la planta hospedante.

## Referencias

- ABEYSINGHE, S. Systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* RU01 against *Uromyces appendiculatus* on *Phaseolus vulgaris*. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 37, n. 3, p. 203, 2009.
- AGROFIT: consulta abierta. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponible en: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agro\\_fit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons)>. Acceso el: 15 feb. 2019.
- AHMED, A. S.; SÁNCHEZ, C. P.; CANDELA, M. E. Evaluation of induction of systemic resistance in pepper plants (*Capsicum annuum*) to *Phytophthora capsici* using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidial accumulation. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, n. 9, p. 817-824, 2000.
- ALFANO, G.; IVEY, M. L.; CAKIR, C.; BOS, J. I.; MILLER, S. A.; MADDEN, L. V.; KAMOUN, S.; HOTTINK, H. A. Systemic modulation of gene expression in tomato by *Trichoderma hamatum* 382. **Phytopathology**, v. 97, n. 4, p. 429-437, 2007.
- ALKOORANEE, J. T.; ALEDAN, T. R.; ALI, A. K.; LU, G.; ZHANG, X.; WU, J.; FU, C.; LI, M. Detecting the hormonal pathways in oilseed rape behind induced systemic resistance by *Trichoderma harzianum* TH12 to *Sclerotinia sclerotiorum*. **PLOS ONE**, v. 12, n. 1, e0168850, 2017.
- AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J. M. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens - an overview of the mechanisms involved. **Mycorrhiza**, v. 6, n. 6, p. 457-464, 1997.
- BAKKER, P. A.; DOORNBOOS, R. F.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M. Induced systemic resistance and the rhizosphere microbiome. **The Plant Pathology Journal**, v. 29, n. 2, p. 136-143, 2013.
- BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J.; VAN LOON, L. C. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. **Phytopathology**, v. 97, n. 2, p. 239-243, 2007.
- BARRA, P. J.; INOSTROZA, N. G.; ACUÑA, J. J.; MORA, M. L.; CROWLEY, D. E.; JORQUERA, M. A. Formulation of bacterial consortia from avocado (*Persea americana* Mill.) and their effect on growth, biomass and superoxide dismutase activity of wheat seedlings under salt stress. **Applied Soil Ecology**, v. 102, p. 80-91, 2016.
- BEN SAID, S.; OR, D. Synthetic microbial ecology: engineering habitats for modular consortia. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, article 1125, 2017.
- BENT, E. Induced systemic resistance mediated by plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In: TUZUN, S.; BENT, E. (Ed.). *Multigenic and induced systemic resistance in plants*. 1st. ed. Boston, MA: Springer, 2006. p. 225-258.
- BERGAMIM FILHO, A.; KITAJIMA, E. W. A história da fitopatologia. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, 2018. p. 3-13.

- BISEN, K.; KESWANI, C.; PATEL, J. S.; SARNA, B. K.; SINGH, H. B. *Trichoderma* spp: efficient inducers of systemic resistance in plants. In: CHOUDHARY, D. K.; VARMA, A. (Ed.). **Microbial-mediated Induced Systemic Resistance in Plants**. Singapore: Springer Science, 2016. p. 185-195.
- CALDERÓN, A. A.; ZAPATA, J. M.; MUÑOZ, R.; PEDREÑO, M. A.; ROS BARCELÓ, A. Resveratrol production as a part of the hypersensitive-like response of grapevine cells to an elicitor from *Trichoderma viride*. **New Phytologist**, v. 124, p. 455-463, 1993.
- CAMERON, D. D.; NEAL, A. L.; VAN-WEES, S. C.; TON J. Mycorrhiza-induced resistance: more than the sum of its parts? **Trends in Plant Science**, v. 18, n. 10, p. 539-545, 2013.
- CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 263 p.
- CHOUDHARY, D. K.; PRAKASH, A.; JOHRI, B. N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. **Indian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 289-297, 2007.
- CHOWDAPPA, P.; KUMAR, S. M.; LAKSHMI, M. J.; UPRETI, K. K. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biological Control**, v. 65, n. 1, p. 109-117, 2013.
- CONRATH, U.; PIETERSE, C. M. J.; MAUCH-MANI, B. Priming in plant-pathogen interactions. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 5, p. 210-216, 2002.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; BELTRÁN-PEÑA, E.; HERRERA-ESTRELLA, A.; LÓPEZ-BUCIO, J. *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal- and camalexin-dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungi *Botrytis cinerea*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 10, p. 1554-1563, 2011.
- DE MEYER, G.; BIGIRIMANA, J.; ELAD, Y.; HÖFTE, M. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 104, p. 279-286, 1998.
- DE SOUZA, V. H. M.; ROMA-ALMEIDA, R. C. C.; MELO, T. A. de; REZENDA, D. C.; INOMOTO, M. M.; PASCHOLATI, S. F. Fitonematoides: Controle biológico e indução de resistência. In: DALJO, R. J. D. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. 1. ed. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2015. p. 242-292.
- DE VRIES, F. T.; WALLENSTEIN, M. D. Below-ground connections underlying above-ground food production: a framework for optimising ecological connections in the rhizosphere. **Journal of Ecology**, v. 105, n. 4, p. 913-920, 2017.
- EL-SHARKAWY, H. H. A.; RASHAD, Y. M.; IBRAHIM, S. A. Biocontrol of stem rust disease of wheat using arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma* spp. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 103, p. 84-91, 2018.
- EL-SHARKAWY, M. M.; SHIMIZU, M.; TAKAHASHI, H.; OZAKI, K.; HYAKUMACHI, M. Induction of systemic resistance against *Cucumber mosaic virus* in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma asperellum* SKT-1. **The Plant Pathology Journal**, v. 29, n. 2, p. 193-200, 2013.
- FONTENELLE, A. D. B.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas vesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v. 30, n. 11, p. 1492-1500, 2011.
- FIorentino, N.; VENTORINO, V.; WOO, S. L.; PEPE, O.; DE ROSA, A.; GIOIA, L.; LOMBARDI, N.; NAPOLITANO, M.; COLLA, G.; ROUPHAEL, Y. *Trichoderma*-based biostimulants modulate rhizosphere microbial populations and improve N uptake efficiency, yield, and nutritional quality of leafy vegetables. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, article 743, 2018.
- FRITZ, M.; JAKOBSEN, L.; LYNGKJÆR, M. F.; THORDAL-CHRISTENSEN, H.; PONS-KUHNEMANN, J. Arbuscular mycorrhiza reduces susceptibility of tomato to *Alternaria solani*. **Mycorrhiza**, v. 16, n. 6, p. 413-419, 2006.
- GUZMÁN-VALLE, P.; BRAVO-LUNA, L.; MONTES-BELMONT, R.; GUIGÓN-LÓPEZ, C.; SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ, G. Induction of resistance to *Sclerotium rolfsii* in different varieties of onion by inoculation with *Trichoderma asperellum*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 138, n. 2, p. 223-229, 2014.
- HAMMERSCHMIDT, R. Introduction: definitions and some history. In: WALTERS, D.; NEWTON, A.; LYON, G. (Ed.). **Induced resistance for plant defence**. 1st ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. p. 1-7.
- HAREL, Y. M.; MEHARI, Z. H.; RAV-DAVID, D.; ELAD, Y. Systemic resistance to gray mold induced in tomato by benzothiadiazole and *Trichoderma harzianum* T39. **Phytopathology**, v. 104, n. 2, p. 150-157, 2014.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.



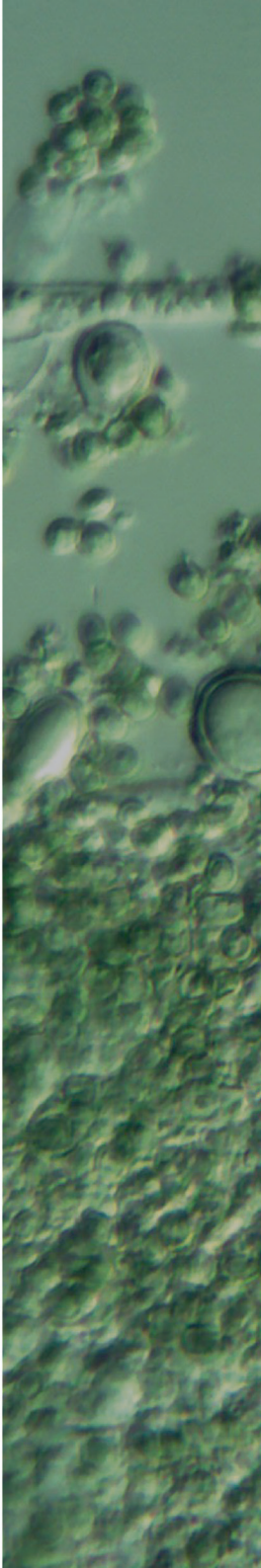
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.
- HERMOSA, R.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v. 16, p. 69-80, 2013.
- HOSSAIN, M. M.; SULTANA, F.; ISLAM, S. Plant growth-promoting fungi (PGPF): Phytostimulation and induced systemic resistance. In: **Plant-microbe interactions agroecological perspectives**. Singapore: Springer, 2017.
- JINDAPUNNAPAT, K.; CHINNASRI, B.; KWANKUAE, S. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne enterolobii*) in guava by the fungus *Trichoderma harzianum*. **Journal of Developments in Sustainable Agriculture**, v. 8, n. 2, p. 110-118, 2013.
- JOGAIAH, S.; ABDELRAHMAN, M.; TRAN, L. P.; ITO, S. I. Different mechanisms of *Trichoderma virens*-mediated resistance in tomato against *Fusarium* wilt involve the jasmonic and salicylic acid pathways. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 4, p. 870-882, 2018.
- JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.
- JUNG, S. C.; MARTINEZ-MEDINA, A.; LOPEZ-RAEZ, J. A.; POZO, M. J. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, n. 6, p. 651-664, 2012.
- KAMOUN, S.; FURZER, O.; JONES, J. D.; JUDELSON, H. S.; ALI, G. S.; DALIO, R. J.; ROY, S. G.; SCHENA, L.; ZAMBOUNIS, A.; PANABIÈRES, F.; CAHILL, D.; RUOCCO, M.; FIGUEIREDO, A.; CHEN, X. R.; HULVEY, J.; STAM, R.; LAMOUR, K.; GIJZEN, M.; TYLER, B. M.; GRÜNWALD, N. J.; MUKHTAR, M. S.; TOMÉ, D. F.; TÖR, M.; VAN DEN ACKERVEKEN, G.; MCDOWELL, J.; DAAYF, F.; FRY, W. E.; LINDQVIST-KREUZE, H.; MEIJER, H. J.; PETRE, B.; RISTAINO, J.; YOSHIDA, K.; BIRCH, P. R.; GOVERS, F. The top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 16, n. 4, p. 413-434, 2015.
- KARASOV, T. L.; CHAE, E.; HERMAN, J. J.; BERGELSON, J. Mechanisms to mitigate the trade-off between growth and defense. **The Plant Cell**, v. 29, n. 4, p. 666-680, 2017.
- KARTHIKEYAN, M.; RADHIKA, K.; MATHIYAZHAGAN, S.; BHASKARAN, R.; SAMIYAPPAN, R.; VELAZHAHAN, R. Induction of phenolics and defense-related enzymes in coconut (*Cocos nucifera* L.) roots treated with biocontrol agents. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 3, p. 367-377, 2006.
- KATH, J.; DIAS ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, J. C. A.; HOMIAK, J. A.; SILVA, C. R. D.; CARDOSO, C. R. Control of *Pratylenchus brachyurus* in soybean with *Trichoderma* spp. and resistance inducers. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 11-12, p. 791-799, 2017.
- KHALEDI, N.; TAHERI, P. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* against soybean charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina*. **Journal of Plant Protection Research**, v. 56, n. 1, p. 21-31, 2016.
- KHAN, J.; OOKA, J. J.; MILLER, S. A.; MADDEN, L. V.; HOITINK, H. A. J. Systemic resistance induced by *Trichoderma hamatum* 382 in cucumber against *Phytophthora* crown rot and leaf blight. **Plant Disease**, v. 88, n. 3, p. 280-286, 2004.
- KIERS, E. T.; DUHAMEL, M.; BEESETTY, Y.; MENSAH, J. A.; FRANKEN, O.; VERBRUGGEN, E.; FELLBAUM, C. R.; KOWALCHUK, G. A.; HART, M. M.; BAGO, A.; PALMER, T. M.; WEST, S. A.; VANDENKOOORNHUYSE, P.; JANS, J.; BÜCKING, H. Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. **Science**, v. 333, n. 6044, p. 880-882, 2011.
- KLOEPPER, J. W.; RYU, C.-M.; ZHANG, S. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. **Phytopathology**, v. 94, n. 11, p. 1259-1266, 2004.
- KONAPPA, N.; KRISHNAMURTHY, S.; SIDDAIAH, C. N.; RAMACHANDRAPPA, N. S.; CHOWDAPPA, S. Evaluation of biological efficacy of *Trichoderma asperellum* against tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, article 63, 2018. DOI: 10.1186/s41938-018-0069-5.
- KONG, W.; MELDGIN, D. R.; COLLINS, J. J.; LU, T. Designing microbial consortia with defined social interactions. **Nature Chemical Biology**, v. 14, n. 8, p. 821-829, 25 ago. 2018.
- KOROLEV, N.; RAV DAVID, D.; ELAD, Y. The role of phytohormones in basal resistance and *Trichoderma*-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*. **BioControl**, v. 53, n. 4, p. 667-683, 2008.
- LEONETTI, P.; ZONNO, M. C.; MOLINARI, S.; ALTOMARE, C. Induction of SA-signaling pathway and ethylene biosynthesis in *Trichoderma harzianum*-treated tomato plants after infection of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Plant Cell Reports**, v. 36, n. 4, p. 621-631, 2017.



- LORITO, M.; WOO, S. L. *Trichoderma*. A Multi-Purpose Tool for Integrated Pest Management. In: **Principles of Plant-Microbe Interactions**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 345-353.
- LUCY, M.; REED, E. R.; GLICK, B. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 86, n. 1, p. 1-25, 2004.
- MCCARTY, N. S.; LEDESMA-AMARO, R. Synthetic biology tools to engineer microbial communities for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 37, n. 2, p. 181-197, 2019.
- MANSFIELD, J.; GENIN, S.; MAGORI, S.; CITOVSKY, V.; SRIARIYANUM, M.; RONALD, P.; DOW, M.; VERDIER, V.; BEER, S. V.; MACHADO, M. A.; TOTH, I.; SALMOND, G.; FOSTER, G. D. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 6, p. 614-629, 2012.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; FERNÁNDEZ, I.; SÁNCHEZ-GUZMÁN, M. J.; JUNG, S. C.; PASCUAL, J. A.; POZO, M. J. Deciphering the hormonal signalling network behind the systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* in tomato. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1-12, 2013.
- MARTÍNEZ MEDINA, A.; FERNANDEZ, I.; LOK, G. B.; POZO, M. J.; PIETERSE, C. M.; VAN WEES, S. C. Shifting from priming of salicylic acid- to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. **New Phytologist**, v. 213, n. 3, p. 1363-1377, 2017.
- MASSOLA JÚNIOR, N. S. Fungos Fitopatogênicos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). Manual de Fitopatologia. 5a. ed. Ouro Fino: Ceres, 2018. p. 107-141.
- MAUCH-MANI, B.; BACCELLI, I.; LUNA, E.; FLORS, V. Defense priming: an adaptive part of induced resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 68, n. 1, p. 485-512, 2017.
- MEDEIROS, H. A.; ARAÚJO FILHO, J. V.; FREITAS, L. G.; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. **Scientific Reports**, v. 7, article 40216, 2017.
- MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, J. C. P.; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). Manual de Fitopatologia. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, 2018. p. 261-272.
- MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 5, p. 634-663, 2013.
- MUTHUKUMAR, A.; ESWARAN, A.; SANGEETHA, G. Induction of systemic resistance by mixtures of fungal and endophytic bacterial isolates against *Pythium aphanidermatum*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 5, p. 1933-1944, 2011.
- MUTHUKUMAR, A.; VENKATESH, A. Biological inductions of systemic resistance to collar rot of peppermint caused by *Sclerotium rolfsii*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 6, p. 1421-1431, 2014.
- NANDINI, B.; HARIPRASAD, P.; SHANKARA, H. N.; PRAKASH, H. S.; GEETHA, N. Total crude protein extract of *Trichoderma* spp. induces systemic resistance in pearl millet against the downy mildew pathogen. **3 Biotech**, v. 7, n. 183, p. 1-10, 2017.
- OLSON, H. A.; BENSON, D. M. Induced systemic resistance and the role of binucleate *Rhizoctonia* and *Trichoderma hamatum* 382 in biocontrol of *Botrytis* blight in geranium. **Biological Control**, v. 42, n. 2, p. 233-241, 2007.
- PALMIERI, D.; VITULLO, D.; DE CURTIS, F.; LIMA, G. A microbial consortium in the rhizosphere as a new biocontrol approach against fusarium decline of chickpea. **Plant and Soil**, v. 412, n. 1-2, p. 425-439, 2017.
- PASCHOLATI, S. F.; DALIO, R. J. D. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). Manual de Fitopatologia. 5. ed. Ouro Fino: Ceres, 2018. p. 424-450.
- PASCHOLATI, S. F.; DE SOUZA, V. H. M. Indução de resistência como estratégia no manejo de doenças de plantas. In: GOES, A.; PEREIRA, F. D.; POLONI, N. M. (Ed.). **Tópicos Especiais em Fitopatologia Aplicada**. 1. ed. Jaboticabal: Funep, 2017. p. 23-32.
- PATIL, A. S.; PATIL, S. R.; PAIKRAO, H. M. *Trichoderma* Secondary Metabolites: Their Biochemistry and Possible Role in Disease Management. In: CHOUDHARY, D. K.; VARMA, A. (Ed.). **Microbial-mediated Induced Systemic Resistance in Plants**. Singapore: Springer, 2016. p. 69-102.
- PERAZZOLLI, M.; DAGOSTIN, S.; FERRARI, A.; ELAD, Y.; PERTOT, I. Induction of systemic resistance against *Plasmopara viticola* in grapevine by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadiazole. **Biological Control**, v. 47, n. 2, p. 228-234, 2008.

- PERAZZOLLI, M.; ROATTI, B.; BOZZA, E.; PERTOT, I. *Trichoderma harzianum* T39 induces resistance against downy mildew by priming for defense without costs for grapevine. **Biological Control**, v. 58, n. 1, p. 74-82, 2011.
- PÉREZ-JARAMILLO, J. E.; MENDES, R.; RAAIJMAKERS, J. M. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. **Plant Molecular Biology**, v. 90, n. 6, p. 635-644, 2016.
- PIETERSE, C. M.; ZAMIOUDIS, C.; BERENDSEN, R. L.; WELLER, D. M.; VAN WEES, S. C.; BAKKER, P. A. Induced systemic resistance by beneficial microbes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, p. 347-375, 2014.
- POZO, M. J.; AZCÓN-AGUILAR, C. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 4, p. 393-398, 2007.
- RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, n. 1, p. 1-11, 2001.
- RAMÍREZ-CARRASCO, G.; MARTÍNEZ-AGUILAR, K.; ALVAREZ-VENEGAS, R. Transgenerational defense priming for crop protection against plant pathogens: a hypothesis. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017.
- REGLI SKI, T.; RODENBURG, N.; TAYLOR, J. T.; NORTHCOTT, G. L.; AH CHEE, A.; SPIERS, T. M.; HILL, R. A. *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic resistance to *Diplodia pinea* in radiata pine (*Pinus radiata*) seedlings. **Forest Pathology**, v. 42, n. 1, p. 75-78, 2012.
- ROSSMANN, M.; SARANGO-FLORES, S. W.; CHIARAMONTE, J. B.; KMIT, M. C. P.; MENDES, R. Plant microbiome: composition and functions in plant compartments. In: PYLRO, V.; ROESCH, L. (Ed.). **The Brazilian Microbiome**. 1st ed. Cham: Springer, 2017. p. 7-20.
- RUZZI, M.; AROCA, R. Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 124-134, 2015.
- SAMANIEGO-GÁMEZ, B. Y.; REYES-RAMÍREZ, A.; MORENO-VALENZUELA, O. A.; TUN-SUÁREZ, J. M. Resistencia sistémica inducida contra virus fitopatógenos mediada por la inoculación con la rizobacteria *Bacillus* spp. **Revista de Protección Vegetal**, v. 32, n. 1, p. 10-22, 2017.
- SARAVANAKUMAR, K.; FAN, L.; FU, K.; YU, C.; WANG, M.; XIA, H.; SUN, J.; LI, Y.; CHEN, J. Cellulase from *Trichoderma harzianum* interacts with roots and triggers induced systemic resistance to foliar disease in maize. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, article 35543, 2016.
- SASSE, J.; MARTINOIA, E.; NORTHEN, T. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome? **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 1, p. 25-41, 2018.
- SCHOUTEDEN, N.; DE WAELE, D.; PANIS, B.; VOS, C. M. Arbuscular mycorrhizal fungi for the biocontrol of plant-parasitic nematodes: A review of the mechanisms involved. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1-12, 2015.
- SCHWACHTJE, J.; WHITCOMB, S. J.; FIRMINO, A. A. P.; ZUTHER, E.; HINCHA, D. K.; KOPKA, J. Induced, imprinted, and primed responses to changing environments: does metabolism store and process information? **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 106, 2019.
- SILVA, V. N.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, 2012.
- SINGH, B. N.; SINGH, A.; SINGH, B. R.; SINGH, H. B. *Trichoderma harzianum* elicits induced resistance in sunflower challenged by *Rhizoctonia solani*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 116, n. 3, p. 654-666, 2014.
- SMITH, D. L.; GRAVEL, V.; YERGEAU, E. Editorial: signaling in the phytomicrobiome. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3th ed. [S. l.]: Academic press, 2010. 800 p.
- SUAREZ, Y. Y. J.; VELANDIA, C. A. M.; PRADO, A. M. C. Inducción de resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporum* en tomate por *Trichoderma koningii*sp. Th003. **Acta Biológica Colombiana**, v. 14, n. 3, p. 111-120, 2009.
- VAN PEER, R.; NIEMANN, G. J.; SCHIPPERS, B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS417r. **Phytopathology**, v. 81, p. 728-734, 1991.
- VITTI, A.; PELLEGRINI, E.; NALI, C.; LOVELLI, S.; SOFO, A.; VALERIO, M.; SCOPA, M.; NUZZACI, M. *Trichoderma harzianum* T-22 induces systemic resistance in tomato infected by *Cucumber mosaic virus*. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1-11, 2016.
- WEI, G. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, v. 81, n. 12, p. 1508, 1991.

- WHIPPS, J. M. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. **Canadian Journal of Botany**, v. 82, n. 8, p. 1198-1227, 2004.
- WOO, S. L.; ROUCCO, M.; CILIENTO, R.; AMBROSINO, P.; MARRA, R.; VINALE, F.; LANZU, I. S.; IOL, F. I. I.; GIGANTE, S.; SCALA, F.; LORITO, M.; TURRA, D. A novel understanding of the three-way interaction between *Trichoderma* spp., the colonized plant and fungal pathogens. In: ROBSON, G. D.; VAN WEST, P.; GADD, G. (Ed.). **Exploitation of Fungi**. Cambridge: Cambridge University Press, 2007. p. 291-309.
- WOO, S. L.; PEPE, O. Microbial consortia: promising probiotics as plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018.
- YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A.; BROWN, P. H. Biostimulants in plant science: a global perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 26, 2017.
- YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A. Biostimulants in agrotechnologies: problems, solutions, outlook. **Agrochemical Herald**, v. 1, p. 15-21, 2016a.
- YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A. Physiological activity and efficiency of application of biostimulants. **Agrokhimya**, v. 6, p. 72-94, 2016b.
- YANG, J.; KLOEPPER, J. W.; RYU, C.-M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 1, p. 1-4, 2009.
- YEDIDIA, I.; SHORESH, M.; KEREM, Z.; BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 12, p. 7343-7353, 2003.
- ZEILINGER, S.; GUPTA, V. K.; DAHMS, T. E. S.; SILVA, R. S.; SINGH, H. B.; UPADHYAY, R. S.; GOMES, E. V.; TSUI, C. K. M.; NAYAK, C. Friends or foes? Emerging insights from fungal interactions with plants. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 40, n. 2, p. 182-207, 2016.
- ZHANG, S.; GAN, Y.; XU, B. Efficacy of *Trichoderma longibrachiatum* in the control of *Heterodera avenae*. **BioControl**, v. 59, n. 3, p. 319-331, 2014.
- ZHANG, H.; WANG, X. Modular co-culture engineering, a new approach for metabolic engineering. **Metabolic Engineering**, v. 37, p. 114-121, 2016.



# PARTE III

## CALIDAD



# Producción industrial de *Trichoderma*

*Gabriel Moura Mascarin*

*Aida Teresinha Santos Matsumura*

*Celson Alexandre Weiler*

*Nilce Naomi Kobori*

*Márcia Eloísa da Silva*

*Diouneia Lisiane Berlitz*

*Akio Santos Matsumura*

## Introducción

Los productos biológicos tienen una demanda creciente en el manejo de grandes cultivos en Brasil y en todo el mundo. Actualmente, existen diferentes productos microbianos registrados en Brasil, entre los que se destaca el hongo perteneciente al género *Trichoderma* para el control de patógenos de raíces o habitantes del suelo y sustrato, y también de la parte aérea de las plantas.

La expansión en la producción de productos biológicos debe ser cuidadosamente programada y evaluada en la industria, de modo que el incremento en la producción de *Trichoderma* spp. para uso comercial no genere problemas relacionados con la calidad final de las formulaciones, entre los cuales la viabilidad de los conidios producidos es de suma importancia para el éxito de la comercialización y aplicación de este hongo en programas de control biológico de enfermedades de plantas (López, 2009).

Las condiciones nutricionales adecuadas durante el crecimiento del cultivo y la esporulación tienden a favorecer la acumulación de reservas endógenas apropiadas, de modo que las esporas recién formadas tengan cualidades ventajosas o adecuadas (Jackson et al., 1997). Es fundamental, por tanto, encontrar las combinaciones idóneas de factores bióticos y abióticos implicados en la producción de biomasa que se traduzcan en un mayor rendimiento de

esporas u otros propágulos de interés, vía fermentación sólida estática o fermentación líquida sumergida, siendo estas los principales métodos de producción masiva de este hongo en Brasil y en el mundo. La viabilidad económica de la producción en masa de una cepa seleccionada, así como el desarrollo de un producto estable y duradero, es decir, una formulación adecuada, son factores clave para el éxito del producto orgánico (Leite, 2012).

*Trichoderma* spp., al igual que la gran mayoría de otros microorganismos quimiotróficos, obtienen energía almacenada en los enlaces químicos de diversos compuestos, principalmente orgánicos, para crecer y multiplicarse. Además, el hongo también requiere fuentes de carbono de origen más complejo. Para el crecimiento adecuado de *Trichoderma* spp., es necesario una serie de factores nutricionales, los cuales están representados por los elementos químicos C, H, O, N, P, K, S, Ca, Mg, etc. Estos nutrientes son de vital importancia para el mantenimiento del metabolismo celular primario y secundario, siendo responsables de la formación de material celular (ej. organelos, paredes celulares, membranas, etc.) o productos (ej. enzimas, metabolitos secundarios, proteínas, etc.) (Cochrane, 1958).

Los carbohidratos son conocidos como fuentes de carbono, a pesar de que también proporcionan hidrógeno y oxígeno. Las proteínas y los aminoácidos son fuentes importantes de nitrógeno, aunque pueden utilizarse fuentes inorgánicas para el crecimiento de *Trichoderma* spp., como las sales de amonio y los nitratos (Danielson y Davey, 1973). Las fuentes orgánicas de nitrógeno también proporcionan carbono, oxígeno, hidrógeno y azufre, que son los elementos estructurales de los componentes celulares y otros productos. Existen numerosas opciones de fuentes de carbono, nitrógeno, minerales y vitaminas disponibles en forma de materias primas de origen vegetal y animal, que en su mayoría son residuos agroindustriales de bajo costo. A pesar de la increíble variabilidad genética entre especies y aislados de *Trichoderma*, combinada con su amplia diversidad nutricional y física para el crecimiento *in vitro*, es importante enfatizar que se deben realizarse estudios para optimizar las condiciones ambientales y nutricionales para su producción a gran escala de manera individual.

Este capítulo tiene como objetivo reportar, en términos generales, los principales sistemas de producción masiva de *Trichoderma* spp. en Brasil y proporcionar información basada en la ecofisiología nutricional de este hongo, con énfasis en el éxito de su cultivo por fermentación estática sólida, bifásica o líquida sumergida.

### **Fermentación de *Trichoderma* spp. en estado sólido**

El proceso de producción en masa de un microorganismo tiene como objetivo obtener un producto con características específicas de pureza, abundancia de estructuras infectivas, viabilidad en el almacenamiento, economía en la producción, comodidad en el uso y transporte, facilidad de aplicación y eficiencia en el control del patógeno objetivo.

Las esporas consisten esencialmente en células envueltas por la pared celular que las protege de condiciones ambientales adversas para su germinación, garantizando así la supervivencia del hongo. Los enfoques destinados a optimizar los medios de cultivo deben considerar no solo el rendimiento de esporas, sino también su calidad, que incluye aspectos como la tolerancia a la desecación, la estabilidad en una preparación seca y la eficacia en el control biológico en sí (Leite et al., 2012).

En este sentido, la producción industrial de *Trichoderma* spp. se lleva a cabo a través de diferentes tipos de fermentación. El cultivo mediante fermentación en estado sólido, también llamado fermentación semisólida o fermentación en medio semisólido o fermentación sólida estática, se aplica al proceso de cultivo de microorganismos sobre sustratos sólidos en ausencia de agua libre. El agua presente en estos sistemas se encuentra unida a la matriz sólida, formando una fina capa sobre la superficie de las partículas (Raimbault, 1998). Para Arora et al. (2017), la fermentación en estado sólido es la mejor opción para la producción masiva de bioplaguicidas, ya que el microorganismo crece en un sustrato similar a su hábitat natural. El sustrato seleccionado debe considerar el tamaño de partícula (de 180  $\mu\text{m}$  a 1,4 mm), el grado de polimerización y cristalinidad, factores físicos como temperatura, pH, actividad de agua ( $a_w$ ) y aireación. Parámetros como tipo y concentración de fuentes de carbono, nitrógeno y fósforo, pH, humedad y temperatura representan variables operativas que son determinantes en el proceso de fermentación en estado sólido (Singhania et al., 2010).

Los estudios sobre factores nutricionales, físicos, químicos y biológicos involucrados en el proceso de esporulación no mostraron ningún conjunto de parámetros óptimos y generales aplicables a una especie de hongo en particular, e incluso pueden estar relacionados con los requisitos específicos de cada aislado dentro de la especie fúngica de interés (Steyart et al., 2010). La presencia o ausencia de luz ejerce un efecto interactivo con los requerimientos nutricionales sobre la esporulación, y los demás estímulos abióticos combinados con diferentes condiciones dan como resultado sistemas de interacción con las fuentes de carbono disponibles (Schmoll et al., 2010; Friedl et al., 2008).

La luz es muy importante para la esporulación de *Trichoderma* y la mayoría de las especies necesitan luz para iniciar la conidiogénesis. *Trichoderma* se define como un hongo de "luz azul", porque para la producción de conidios la energía de la luz puede variar desde el espectro cercano al ultravioleta hasta el azul (320 - 500 nm). La etapa inicial de percepción de la luz por parte de los fotorreceptores no depende de la presencia de oxígeno molecular y temperatura. Pero si depende del estado metabólico de las células. Las células más jóvenes y metabólicamente activas son más sensibles a la presencia de la luz. Tras la etapa inicial viene la fase de cambios fisiológicos y morfológicos y en esta fase, la esporulación depende de procesos oxidativos, inhibiendo la producción de esporas en las hifas que crecen en ausencia



de oxígeno. Se utilizan ciclos alternos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (fotoperiodo de 12 horas), por ser similares a las condiciones del medio natural. Unas 24 horas después del inicio del estímulo lumínico comienza la fotoconidiación, mientras que la maduración de los conidios puede tardar hasta 5 días, dependiendo de la especie (Steyaert et al., 2010; Casas-Flores; Herrera-Estrella, 2013; Steyaert et al., 2013).

El agua juega un papel importante en la fermentación en estado sólido, debido a su alto grado de interacción con las sustancias que componen la fase sólida (Gervais; Molin, 2003). En la fermentación en estado sólido, el agua está relacionada con dos parámetros: el primero es la humedad, que se refiere al porcentaje de agua en la masa total del medio; el segundo, la actividad del agua ( $a_w$ ), que es la cantidad de moléculas de agua disponibles en las inmediaciones de las partículas del sustrato que afectan directamente el crecimiento microbiano y la síntesis de metabolitos. El nivel de humedad varía según el ecosistema formado entre el microorganismo y el sustrato. Los bajos niveles de humedad conducen a la inhibición del crecimiento microbiano y, en consecuencia, al uso ineficiente del sustrato. Por otro lado, el exceso de humedad da como resultado una porosidad reducida, una baja difusión de oxígeno y un intercambio de gases reducido, lo que perjudica la respiración microbiana (Hölker et al., 2004).

Gran parte de las técnicas desarrolladas para la producción de hongos entomopatógenos en Brasil consiste en el uso de cereales o granos precocidos como sustrato, principalmente arroz, que se inició a fines de la década de 1960 y esta técnica se transfirió a la producción en masa de *Trichoderma* spp. Durante las siguientes décadas, las adaptaciones en el sistema hicieron más práctico el proceso y más eficiente la producción (Lopes, 2009).

La gran mayoría de los materiales viables para la biotransformación y que son utilizados como sustratos incluye granos de arroz, maíz, trigo, sorgo, mijo, salvado, cascarilla (Hewavitharana et al., 2018; Sargin et al., 2013; Cavalcante et al., 2008), ya que sus principales componentes son celulosa, hemicelulosa, lignina, almidón, pectina y proteínas, además de vitaminas y minerales.

La producción en masa en sustrato sólido debe iniciar con la multiplicación de cada cepa de la colección (stock), las cuales pueden ser conservadas en forma deshidratada (liofilizadas) y criopreservadas en nitrógeno líquido o en ultracongelación (-80 °C) para asegurar el mantenimiento de sus características morfológicas, fisiológicas y genéticas. Según Sandhya et al., (2005), la concentración inicial del inóculo, en relación con la cantidad de sustrato utilizado, es un factor biológico importante, necesario para garantizar la fermentación del medio, acelerar la colonización del sustrato y no agotar los nutrientes necesarios para el pleno desarrollo del microorganismo.

La multiplicación para la obtención del inóculo inicial se realiza en cajas Petri (9,0 x 1,5 cm) con medio comercial Agar Papa Dextrosa (PDA), las cuales se mantienen en una cámara de

crecimiento tipo B.O.D. a temperatura ambiente de  $26 \pm 2$  °C, HR > 60, con 12 horas de fotofase durante 7 días (Figuras 1A y 1B). La siguiente etapa es el fraccionamiento del arroz en bolsas de polipropileno (40 x 25 cm), llenando con 1/3 del volumen total y luego sometido a esterilización durante 25 minutos a 120 °C (1 atm) (Figura 1C). Sobre este sustrato se hace la inoculación mecanizada de una suspensión con  $10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  de *Trichoderma* spp. obtenida a partir de la multiplicación del inóculo inicial (Figura 1D). Este material permanece horizontalmente en cuartos aclimatados a  $26 \pm 2$  °C, 12 horas de fotofase durante un período de 10 a 12 días, para obtener la mayor tasa de desarrollo y esporulación del hongo en arroz (Figura 1E).



**Figura 1.** Proceso de producción masiva de *Trichoderma* spp. sobre sustrato sólido.

Fuente: Aida Terezinha Santos Matsumura.

Además de la fermentación en estado sólido, la fermentación se puede llevar a cabo a través de un proceso de dos fases, donde el hongo es reproducido inicialmente en un medio líquido seguido de un medio sólido. En este proceso, se obtiene una alta producción de biomasa a través del cultivo en medio líquido y luego la producción de conidios estables e hidrofóbicos en medio sólido (Jenkins; Goettel, 1997). En esta fermentación, aspectos como el tiempo de producción de la fuente de inóculo en medio líquido, la cantidad de fuente de inóculo transferida al medio sólido y la compatibilidad de los sustratos involucrados pueden determinar el aumento de la producción (Machado et al., 2013; Moraes et al., 2014).

En la fermentación bifásica descrita por Santos (2017), el medio líquido utilizado fue a base de glucosa y extracto de levadura conteniendo  $45 \text{ g L}^{-1}$  de fuente de carbono y  $36 \text{ g L}^{-1}$

de fuente de nitrógeno. En la investigación antes mencionada, fueron inoculados 10 mL de suspensión fúngica a  $5,0 \times 10^6$  conidios/mL con 0,05% de Tween® 80 en 90 mL de medio líquido en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Luego los frascos son mantenidos a 28 °C en una base de agitación orbital a 325 rpm, siendo homogeneizados manual y diariamente para evitar el crecimiento micelial y la esporulación en las paredes del frasco. Después de un período de incubación de 3 días, este medio con  $> 1,0 \times 10^8$  propágulos mL<sup>-1</sup> es inoculado sobre sustratos sólidos (arroz y/o salvado) y materiales inertes (soportes de esporulación y crecimiento). Después de la inoculación, las bolsas se incuban a  $25 \pm 2$  °C, HR  $70 \pm 10\%$  y fotofase de 12 horas durante 10 días. Después de este período de incubación, los conidios se extraen del sustrato por lavado en agua.

Una vez finalizado el proceso de multiplicación en masa, la materia prima compuesta por arroz colonizado por hongos debe pasar por el proceso de secado en estufa a  $28 \pm 2$  °C con circulación de aire forzado. Luego del secado, la materia prima puede ser procesada utilizando diferentes tecnologías: (i) proceso de trituración mecánica de los granos de arroz colonizados con el hongo, resultando en la formulación en polvo (Figura 1F1); (ii): separación de las esporas del hongo utilizando la metodología MycoHarvester, resultando en la formulación a base de esporas secas (Figura 1 F2); (iii): proceso de lavado de la materia prima que da como resultado formulaciones en forma de gel o líquido. En este contexto de fermentación sólida utilizando arroz precocido, el producto final es la obtención de conidios aéreos de *Trichoderma* para su formulación y comercialización. Aunque *Trichoderma* también produce clamidosporas sobre sustratos sólidos, esta producción es muy baja y poco usada para la elaboración de productos comerciales, siendo inexistente en Brasil.

Cuando la empresa utiliza más de una especie y/o diferentes aislados de *Trichoderma* spp., estos deberán ser cultivados por separado y la mezcla será hecha durante la etapa de formulación del producto final. La formulación del producto final debe mantener la estabilidad y aumentar la supervivencia de las esporas durante el almacenamiento, el transporte y el establecimiento en el campo.

El rendimiento en la producción de conidios de *Trichoderma* spp. está relacionado con las especies utilizadas en el proceso de producción, lo que puede provocar variaciones en las tasas de rendimiento, además de la influencia derivada de las características nutricionales y físicas de los diferentes sustratos sólidos utilizados como fuentes de carbono, nitrógeno y matriz para proporcionar soporte físico y aireación (Tabla 1).

**Tabla 1.** Rendimiento en producción en masa de diferentes especies de *Trichoderma* cultivadas sobre diferentes sustratos sólidos.

Aislado	Rendimiento	Sustrato	Referencia
CEN 287- <i>T. harzianum</i>	1,6 x 10 <sup>8</sup> conidios mL <sup>-1</sup>	Arroz	Muniz et al., 2018
CEN 288- <i>T. harzianum</i>	2,6 x 10 <sup>8</sup> conidios mL <sup>-1</sup>	Arroz	Muniz et al., 2018
CEN 289- <i>T. harzianum</i>	1,4 x 10 <sup>8</sup> conidios mL <sup>-1</sup>	Arroz	Muniz et al., 2018
CEN 290- <i>T. harzianum</i>	2,5 x 10 <sup>8</sup> conidios mL <sup>-1</sup>	Arroz	Muniz et al., 2018
CEN 316- <i>T. harzianum</i>	0,5 x 10 <sup>8</sup> conidios mL <sup>-1</sup>	Arroz	Muniz et al., 2018
<i>T. harzianum</i>	2,1 a 5,8 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Arroz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. harzianum</i>	2,3 a 7,4 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Salvado de maíz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. harzianum</i>	5,1 a 28,3 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Salvado de trigo	Cavalcante et al., 2008
<i>T. viride</i>	1,8 a 5,7 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Arroz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. viride</i>	2,3 a 6,8 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Salvado de maíz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. viride</i>	1,9 a 24 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Salvado de trigo	Cavalcante et al., 2008
<i>T. koningii</i>	2,3 a 5,7 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Arroz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. koningii</i>	1,1 a 6,1 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Salvado de maíz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. koningii</i>	2,8 a 8,8 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Salvado de trigo	Cavalcante et al., 2008
<i>T. polysporum</i>	1,4 a 4 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Arroz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. polysporum</i>	0,1 a 2,6 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Salvado de maíz	Cavalcante et al., 2008
<i>T. polysporum</i>	1,7 a 6,5 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Salvado de trigo	Cavalcante et al., 2008
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	1 x 10 <sup>10</sup> x esporas g <sup>-1</sup>	Salvado de trigo	Sargin et al., 2013
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	9,2 x 10 <sup>7</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Salvado de arroz	Sargin et al., 2013
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	4 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Semilla de algodón	Sargin et al., 2013
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	5 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Bagazo de uva	Sargin et al., 2013
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	2,8 x 10 <sup>8</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Aserrín	Sargin et al., 2013
<i>T. harzianum</i> EGE-K38	3,6 x 10 <sup>7</sup> esporas g <sup>-1</sup>	Cáscara de nuez	Sargin et al., 2013
<i>T. viride</i>	6,5 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Polvo de coco	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. viride</i>	6 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Aserrín	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. viride</i>	5 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Arroz	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. asperellum</i>	5,5 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Polvo de coco	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. asperellum</i>	4,5 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Aserrín	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. asperellum</i>	3,5 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Arroz	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. harzianum</i>	6,5 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Polvo de coco	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. harzianum</i>	5,5 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Aserrín	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. harzianum</i>	4,5 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Arroz	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. longibrachiatum</i>	7 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Polvo de coco	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. longibrachiatum</i>	6 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Aserrín	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. longibrachiatum</i>	6,5 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Arroz	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. virens</i>	7 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Polvo de coco	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. virens</i>	6,5 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Aserrín	Hewavitharana et al., 2018
<i>T. virens</i>	6 x 10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>	Arroz	Hewavitharana et al., 2018

En cuanto al almacenamiento, aunque aún no existen metodologías de evaluación estandarizadas, las empresas miden la calidad de sus productos básicamente a través de tres criterios: conteo de esporas (mínimo de  $1 \times 10^8$  conidios  $g^{-1}$ ), germinación (mínimo de 85%) y factibilidad (mínimo de  $8,5 \times 10^7$  UFC  $g^{-1}$ ). La vida útil de los productos varía de 30 a 180 días a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) y de 180 a 360 días en refrigerador o cámara fría (4 a 6 °C) (Morandi; Bettiol, 2009).

Todo proceso de fabricación debe ser sometido a un control de calidad y seguir los estándares de buenas prácticas de fabricación, siguiendo la metodología de APPCC (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control), visando la garantía, eficacia y efectividad del control de peligros a la producción. Paralelamente al proceso de producción, es necesario desarrollar un riguroso procedimiento de control de calidad, que permitirá monitorear cualquier variación o contaminación que pueda ocurrir durante el proceso de producción y el posterior almacenamiento del producto.

Ese control de calidad tiene como objetivo garantizar la concentración, pureza, viabilidad y la determinación taxonómica (en el caso de diferentes especies) para mantener las características deseadas en el producto final. Para garantizar la calidad final del producto, es necesario monitorear el proceso desde el mantenimiento de las cepas hasta su establecimiento en campo. El seguimiento del proceso debe ser realizado por personas capaces de detectar cualquier fallo en el proceso productivo. El control de calidad se tratará en el Capítulo 9.

Los datos del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento (Mapa) muestran el total de productos registrados en Brasil. Son considerados productos de baja toxicidad aquellos productos biológicos, microbiológicos, semioquímicos, bioquímicos, extractos de plantas o aquellos usados en la agricultura orgánica. Para el año 2019, del total de 1.210 plaguicidas, solo el 1,4% se caracterizan como productos orgánicos, con menos del 1% de los productos destinado a la agricultura orgánica.

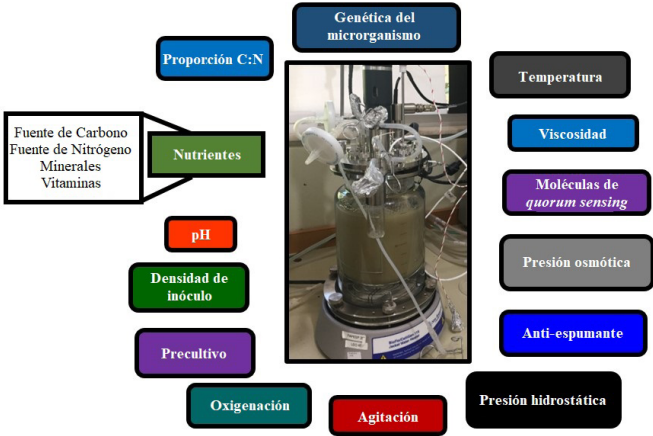
Los productos registrados ante el Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento (Agrofit, 2003c) como fungicidas o nematocidas incluyen las especies de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma stromaticum* y *Trichoderma koningiopsis*.

En ese contexto, las diferentes formulaciones de estos fungicidas y nematocidas registrados en Brasil a base de *Trichoderma* spp. se distribuyen en PM: polvo mojable; GD: gránulos dispersables; SC: suspensión concentrada; CE: concentrado emulsionable. Debido a la diversidad de condiciones climáticas, objetivos y preferencias del mercado, un mismo microorganismo puede formularse de diferentes maneras para satisfacer diferentes mercados. Así, el índice de códigos y los nombres de las diferentes formulaciones están disponibles para consulta, según la terminología de la ABNT NBR 12679/2018 (Associação..., 2013).

Además, la norma ABNT NBR 8510/2018 rige sobre las características físicas de cada tipo de formulación (Associação..., 2013).

### **Fermentación líquida sumergida de *Trichoderma* spp.**

La fermentación líquida sumergida es un método ampliamente utilizado en la producción de biomasa microbiana, enzimas y metabolitos secundarios de microorganismos con múltiples funciones y aplicaciones en diferentes sectores, tales como veterinario, farmacéutico, alimentario y agrícola. Tradicionalmente, la fermentación microbiana consiste en un proceso anaeróbico, es decir en ausencia de oxígeno, basado en la transformación de sustratos orgánicos en moléculas más simples con baja generación de energía en forma de ATP y baja producción de biomasa celular. La fermentación aeróbica, en cambio, implica un proceso de fosforilación oxidativa en presencia de oxígeno que se produce durante la respiración celular, generando una alta producción de energía y biomasa microbiana. Este tipo de fermentación aeróbica es, por lo tanto, el principal bioproceso que tiene como objetivo la producción masiva de biomasa de microorganismos benéficos, que también son aerobios facultativos, para su uso como agentes de control biológico. Los componentes requeridos para la fermentación de *Trichoderma* spp. en un medio líquido son: nutrientes clasificados como fuentes de carbono y nitrógeno, componentes inorgánicos (sales minerales) y vitaminas, según su función en el medio de cultivo. En orden de magnitud y requerimiento para el crecimiento de *Trichoderma* spp., el carbono, oxígeno, nitrógeno, hidrógeno y azufre son los nutrientes requeridos en mayor concentración en ese orden (Zabskie et al., 2008). La composición nutricional del medio de cultivo líquido, así como los factores físicos del ambiente de producción tienen una fuerte influencia en la formación, rendimiento y calidad de los propágulos cultivados durante la fermentación líquida. Los principales factores que pueden impactar significativamente los cultivos líquidos de *Trichoderma* spp. se indican en la figura 2.

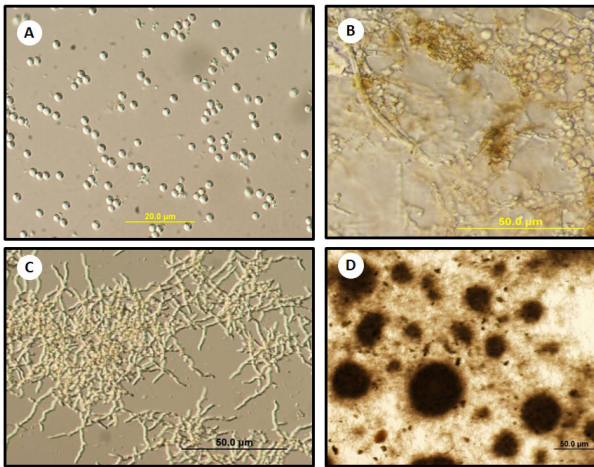


**Figura 2.** Factores físicos, químicos, genéticos y nutricionales que afectan las variables de crecimiento de *Trichoderma* bajo cultivo sumergido en biorreactores con agitación mecánica.

Fuente: Gabriel Moura Mascarín.

En el sistema de fermentación líquida sumergida es posible producir diferentes tipos de propágulos de *Trichoderma* spp., a diferencia de la fermentación en estado sólido en la que se suele obtener únicamente conidios y micelio. Por lo tanto, la fermentación líquida sumergida brinda una excelente versatilidad para el desarrollo de diferentes propágulos fúngicos, como conidios sumergidos, micelio, microesclerocios y clamidosporas, tal como se ilustra en la Figura 3.

Fotos: Nilce Naomi Kobori, Gabriel Moura Mascarín;



**Figura 3.** Ejemplos de propágulos sumergidos de *Trichoderma harzianum* (cepa T-22) producidos bajo cultivo líquido. A) Conidios sumergidos, B) Clamidosporas, C) Micelio y D) Microesclerocios (nótese la pigmentación oscura de estas estructuras).



En la tabla 2 se muestran las principales diferencias y aplicaciones de estos diferentes propágulos de *Trichoderma* en comparación con los conidios aéreos. Nótese la ventaja que tiene la fermentación líquida sumergida en cuanto al tiempo de cultivo, que generalmente es más corto que en el sistema de fermentación en estado sólido.

**Tabla 2.** Rendimientos y tiempos de producción de diferentes propágulos de *Trichoderma* spp. para su uso como ingrediente activo en productos comerciales.

Tipo de propágulo	Forma de fermentación	Rendimiento	Tiempo de fermentación	Eficacia	Tiempo de almacenamiento	Forma de aplicación
Conidios aéreos	Substrato sólido	$5 \times 10^8$ conidios $g^{-1}$ de substrato	Variable (1-3 semanas)	De buena a excelente	3 a 12 meses	Suelo, parte aérea, semillas
Micelio	Fermentación sólida o líquida	Muy variable (1 a $50 \text{ mg mL}^{-1}$ )	>1 día	De regular a buena	1 a 6 meses	Suelo, parte aérea y semillas
Conidios sumergidos	Fermentación líquida	$1 \times 10^7$ a $2 \times 10^9$ conidios $\text{mL}^{-1}$	3 a 10 días	De regular a buena	1 a 6 meses	Suelo, parte aérea, semilla
Clamidosporios	Fermentación líquida	$1 \times 10^2$ a $2 \times 10^6$ clamidosporios $\text{mL}^{-1}$	3 a 10 días	De buena a excelente	12 meses	Suelo y semillas
Microesclerocios	Fermentación líquida	$2 \times 10^2$ a $5 \times 10^4$ microesclerocios $\text{mL}^{-1}$	3 a 7 días	De buena a excelente	12 meses	Suelo y semillas

<sup>1</sup>La vida útil de los propágulos de *Trichoderma* dependerá de la especie y aislado del hongo, así como de las condiciones nutricionales del medio de producción que afectan su calidad y también de las condiciones de almacenamiento (temperatura, tipo de empaque, vacío, humedad final de los propágulos, método de secado y tipo de formulación).

Existen numerosos estudios realizados entre las décadas de 1980 y 1990 que demuestran la factibilidad y facilidad de producir, principalmente, conidios, micelios y clamidosporas sumergidas de varias especies de *Trichoderma* spp. en medios líquidos bajo cultivo sumergido utilizando ingredientes, a menudo de muy bajo costo, como levadura de cerveza y melaza de caña de azúcar, como se muestra de manera resumida a continuación. Papavizas et al. (1984) desarrollaron un sistema de fermentación líquida para las especies de *Trichoderma* y *Gliocladium* utilizando una botella de plástico autoclavable de 20 L para escalar la producción de *Trichoderma* en un volumen útil de 7-10 L de solución fermentada que contiene los conidios sumergidos. Adicionalmente, fue adaptado un sistema de inyección de aire estéril por medio de compresores de acuario con filtros y tubería con el fin de proporcionar oxigenación al medio de cultivo líquido.

En este sistema, el medio líquido utilizado estaba compuesto de melaza (3%) y levadura de cerveza (0,5%), lo que proporcionó un rendimiento máximo de  $3,2 \times 10^9 \text{ g}^{-1}$  de biomasa seca del hongo *T. harzianum*, después de 10-15 días de fermentación. Esta biomasa fúngica seca consistía básicamente en conidios sumergidos, clamidosporas y micelio. De estas, las



clamidosporas fueron las que mostraron mayor persistencia y supervivencia después de ser inoculados en el suelo, después de su formulación y secado con pirofilita, un mineral de filosilicato compuesto por hidróxido de silicato de aluminio. Más adelante, Jin et al. (1991) decidieron modificar la actividad de agua y, en consecuencia, la presión osmótica del medio líquido (RM8), compuesto por el medio de Richard suplementado con jugo de extractos vegetales denominado V8, para el crecimiento de *T. harzianum* a 30 °C y 150 rpm con el fin de aumentar la producción de conidios sumergidos y tolerancia al secado al vacío. Para ello, los autores utilizaron el polímero polietilenglicol 200 (PEG 200) como osmolito, el cual fue añadido a 6% (v/v) al medio RM8, generando un potencial hídrico de -1,88 MPa. Estos mismos autores comprobaron que la adición de PEG 200 al medio RM8 en etapas más tempranas de crecimiento (0 o 24 horas) del cultivo líquido del hongo permitía desencadenar antes el proceso de conidiogénesis o esporulación sumergida. La máxima producción fue alcanzada a las 84 h de cultivo y alcanzó un valor de  $6 \times 10^8$  conidios sumergidos  $\text{mL}^{-1}$  con un alto contenido de trealosa en su masa seca, lo que le confería mayor tolerancia a la desecación (Jin et al., 1991; Harman et al., 1991).

Posteriormente, Jin et al. (1996) produjeron conidios sumergidos de *T. harzianum* (cepa T-22) en medio RM8 modificado adicionado con 9% de glicerol en un fermentador de mesa (1,5 L) a 32°C con 50% de saturación de aire y agitación mecánica de 1000 rpm, cuyo resultado reveló una concentración final de  $1.1 \times 10^{11}$  conidios sumergidos  $\text{g}^{-1}$  de biomasa seca (conidios + micelio) a las 68 h de cultivo, previa inoculación del medio con un precultivo líquido de 2 días. Estos conidios también mostraron tolerancia a la desecación debido a la alta presión osmótica generada por el glicerol en el medio de cultivo, lo que confirió esta cualidad fenotípica a las células.

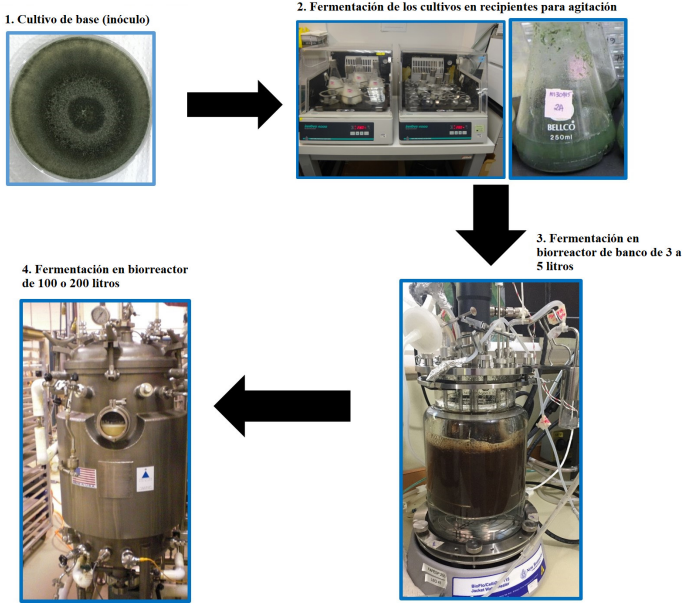
En un estudio realizado por Sriram et al. (2011) se observó que la adición de glicerol al medio líquido para la producción de conidios sumergidos de *T. harzianum* confirió una vida útil prolongada de hasta 12 meses en almacenamiento a temperatura ambiente entre 23 y 29 °C, lo cual es una característica extremadamente deseable en un bioproducto comercial. Otros trabajos previos que reportan los esfuerzos realizados para optimizar la producción de conidios sumergidos de *Trichoderma* spp. no tuvieron tanto éxito, ya que los rendimientos obtenidos oscilaron entre 4,1 y  $9,2 \times 10^7$  conidios sumergidos  $\text{mL}^{-1}$  con hasta 3 días de cultivo (Jakubikova et al., 2006; Syahiddin, 2007). Sin embargo, los requisitos nutricionales y ambientales necesarios para el crecimiento en fermentación líquida pueden variar considerablemente entre especies y cepas de *Trichoderma*, lo que implica estudios de optimización específicos.

Uno de los trabajos que recientemente ha sido considerado un parteaguas en la historia de la producción masiva de *Trichoderma* spp. rescató y perfeccionó el método de fermentación líquida sumergida para manipular las condiciones nutricionales y ambientales durante el

crecimiento de este hongo, con el fin de producir propágulos mediante el uso de un medio de bajo costo con alta eficiencia, menor dependencia de mano de obra y que proporcione uniformidad y calidad al producto final a través de un control más estricto de los parámetros de fermentación. Este trabajo disruptivo se llevó a cabo a través de una asociación entre un grupo de investigadores brasileños y norteamericanos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en Peoria, Illinois, cuyos resultados dieron como resultado un artículo y una patente que describen la composición y el proceso de producción a través de la fermentación líquida sumergida de un propágulo de resistencia de *Trichoderma* llamado microesclerocio (Kobori et al., 2015; Jackson et al., patente de 2015). Hasta la fecha no existen reportes sobre la formación de microesclerocios por parte de *Trichoderma* en la naturaleza, lo que hace que esta estructura fúngica sea única por su desarrollo inducido exclusivamente en líquido artificial. Sin embargo, no es posible descartar la hipótesis de que *Trichoderma* pueda formar esta estructura de resistencia en sus más variados nichos ecológicos. Por definición, el microesclerocio se considera una estructura multicelular formada por células de pseudoparénquima y que suele acompañarse de una pigmentación más oscura o simplemente está formada por agregados de hifas compactadas con depósito de quitina y pigmentos durante su maduración fisiológica, convirtiéndose en una estructura densa y melanizada, similar a los esclerocios de los hongos fitopatógenos, pero en una escala micrométrica que oscila entre 50 y 500  $\mu\text{m}$  de tamaño (Jackson; Payne, 2016).

Generalmente, los hongos filamentosos, especialmente aquellos con hábitos fitopatógeno, forman microesclerocios para superar y sobrevivir condiciones nutricionales y ambientales desfavorables, ofreciéndole una ventaja adaptativa. El descubrimiento de la formación de microesclerocios en especies de *Trichoderma* spp. abre un nuevo enfoque para el desarrollo de productos con mayor persistencia en el campo para su aplicación mediante el tratamiento de semillas o directamente en el suelo. Sin embargo, aún faltan estudios que comparen la bioeficacia y persistencia entre microesclerocios y conidios aéreos en condiciones de campo.

El proceso de fermentación líquida sumergida desarrollado para *Trichoderma* spp. tiene como objetivo producir, de manera rápida y económica, propágulos estables llamados microesclerocios para su uso en el control de enfermedades de las plantas y la promoción del crecimiento de plantas. El uso de la fermentación líquida bajo condiciones nutricionales y ambientales apropiadas para el crecimiento de *Trichoderma* spp. en biorreactores de 5 a 100 L de capacidad, permitió la optimización de producción con rendimientos simultáneos de  $5\text{-}10 \times 10^6$  microesclerocios  $\text{L}^{-1}$  y  $1\text{-}2 \times 10^{12}$  conidios sumergidas  $\text{L}^{-1}$  en tan solo 3 días de cultivo, utilizando precultivos líquidos de 3 días para inoculación (Figura 4).



**Figura 4.** Secuencia de la producción de biomasa de *Trichoderma* spp. mediante fermentación líquida sumergida y el proceso de escalonamiento en biorreactores con agitación mecánica.

Fuente: Nilce Naomi Kobori; Gabriel Moura Mascarin.

El costo del medio líquido para lograr estos rendimientos de producción se estimó en menos de 20 centavos de dólar estadounidense (Tabla 3).

**Tabla 3.** Resultados y costo de producción de microesclerocios de *Trichoderma harzianum* (cepa T-22) en fermentación líquida sumergida utilizando un biorreactor con agitación mecánica.

Atributos	Resultados
Costo del medio de producción	< US\$ 0,20 L <sup>-1</sup>
Tiempo corto de fermentación	3 – 4 días
Altos rendimientos de microesclerocios (ME)	1 x 10 <sup>8</sup> ME L <sup>-1</sup> , biomasa seca 30 g L <sup>-1</sup>
Tolerancia y desecación	90 – 100% después de 24 horas de incubación
Excelente vida útil	Mínimo 12 meses a 4 °C y mínimo 6 meses a 28 °C
Eficacia de biocontrol	Excelente – conidios provenientes de los microesclerocios son producidos en el mismo lugar en el cual será aplicado

Fuente: Patente US9642372B2 – Jackson, Mascarin y Kobori, 2015.

Kobori et al. (2015) probaron diferentes concentraciones de carbono total y variaciones en la relación C: N en medios de cultivo. Los resultados revelaron que en los medios con menor

relación C: N y bajo contenido de carbono en el medio (8 g L<sup>-1</sup>), es decir, medios pobres en nitrógeno y carbono, siempre hubo una mayor producción de conidios sumergidos, los cuales comenzaban a formarse generalmente al inicio del cultivo, entre 24 a 36 horas. Contrariamente a esta tendencia, los medios con relaciones C: N más altas y mayor contenido de carbono (36 g L<sup>-1</sup>) produjeron tanto microesclerocios como conidios sumergidos, pero en medios con relaciones C: N más bajas (30:1 y 10:1) solo indujeron la formación de microesclerocios en cantidades considerablemente altas (Tabla 4).

**Tabla 4.** Influencia de las variables concentración de glucosa (g L<sup>-1</sup>), ácidos casamínicos (g L<sup>-1</sup>), carbono total (g L<sup>-1</sup>) y relación C: N en la producción de microesclerocios y conidios sumergidos de *Trichoderma harzianum* (cepa T-22) después de 4 días de cultivo líquido sumergido en matraces de agitación a 300 rpm y 28°C con escotofase total.

Medio líquido	Glucosa (g L <sup>-1</sup> )	Ácidos casamínicos (g L <sup>-1</sup> )	Carbono (g L <sup>-1</sup> )	Relación C: N	Conidios sumergidos (x10 <sup>10</sup> L <sup>-1</sup> )	Microesclerocios (x10 <sup>6</sup> L <sup>-1</sup> )	Conidios producidos en gránulos de MS (x10 <sup>10</sup> g <sup>-1</sup> )
1	10	10	8	10: 1	25,4 b <sup>†</sup>	0 b <sup>†</sup>	-
2	16,6	3,4	8	30: 1	32,1 ab	0 b	-
3	18	2	8	50: 1	15,8 c	0 b	-
4	45	45	36	10: 1	0 d	48,3 a	1,52 a <sup>†</sup>
5	75	15	36	30: 1	0 d	33,3 a	1,12 b
6	81	9	36	50: 1	49,9 a	25,8 a	0,99 c

Fuente: Kobori et al. (2015). <sup>†</sup>Medias seguidas de las mismas letras no mostraron diferencias significativas (prueba de Tukey-Kramer, P < 0,05).

Un factor de gran relevancia para la industria de los biopesticidas es si los propágulos producidos en la fermentación líquida o sólida de *Trichoderma* spp. son susceptibles al secado y la estabilización para respaldar la formulación de un producto sólido con una vida útil deseable de al menos 6 meses a temperatura ambiente (25-30 °C). En este contexto, otro resultado interesante generado por esta investigación (Jackson et al., 2015 patente; Nilce N. Kobori, datos no publicados) fue la notable capacidad de estos propágulos sumergidos de *Trichoderma* para ser recalcitrantes al proceso de secado necesario para obtener una formulación sólida para su posterior aplicación al suelo o a semillas. Una de las ventajas de los microesclerocios es que son estructuras resilientes con reserva nutricional suficiente para iniciar la germinación y la producción *in situ* de una gran cantidad de conidios aéreos, lo que contribuye a crear una alta densidad de inóculo del hongo en el suelo o rizosfera de las plantas tratadas.

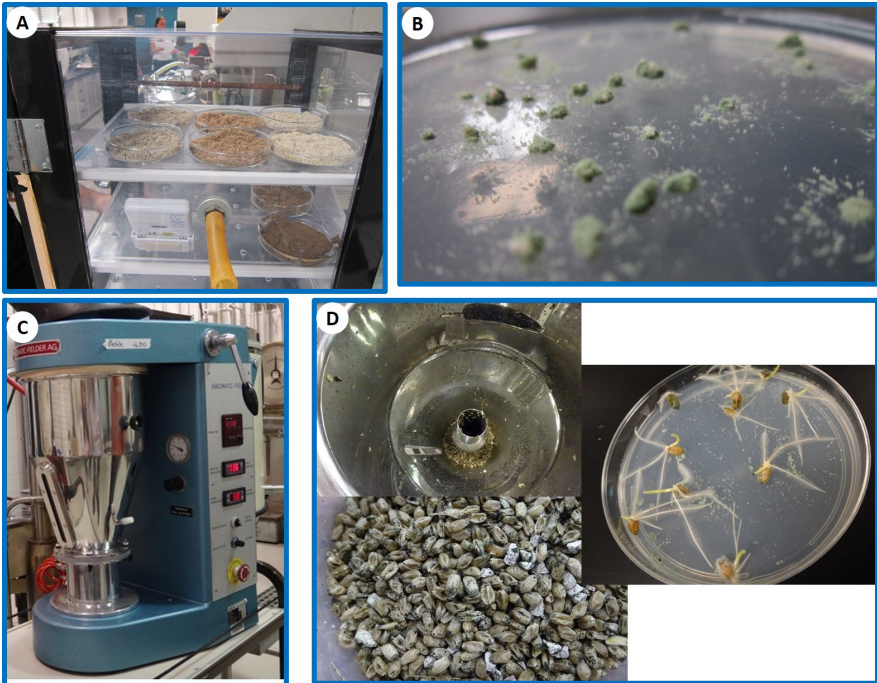
La Figura 5 ilustra el proceso de secado con aire forzado en cabina hermética con una duración de hasta 16 horas (secado lento) y secado y recubrimiento simultáneo de semillas con microesclerocios y conidios sumergidos vía lecho fluidizado, mostrando posteriormente

la viabilidad tanto del hongo como de las semillas después de la rehidratación en medio agar-agua (Nilce N. Kobori, datos no publicados). Los microesclerocios secos en forma granulada, cuando son rehidratados adecuadamente, son capaces de germinar en menos de 24 horas y posteriormente producir una gran cantidad de conidios utilizando sus propias reservas nutricionales (detalle en la Figura 5B).

En la Tabla 4, después del secado lento de microesclerocios formulados con tierra de diatomeas a 7,5% peso/volumen (p/v), se observa una alta producción de conidios a partir de los gránulos sometidos a rehidratación durante 7 días en medio agar-agua. Esta concentración en la magnitud de  $10^{10}$  conidios por gramo de gránulos de microesclerocios de *Trichoderma* es muchas veces superior a las concentraciones de conidios aéreos declarados en las etiquetas de los productos comerciales registrados en Brasil.

En términos de almacenamiento, las formulaciones secas compuestas por gránulos de microesclerocios de *Trichoderma* se mantuvieron viables durante más de 12 meses en almacenamiento a 4 °C y lograron aumentar la germinación y supervivencia de las plántulas de melón expuestas al inóculo del patógeno *Rhizoctonia solani*, un hongo que causa la enfermedad de *damping-off* en numerosas especies de plantas (Kobori et al., 2015; Jackson et al., 2015 patente).

El proceso de fermentación líquida sumergida descrito por Kobori et al. (2015) y patentado por Jackson et al. (2015) tuvo como objetivo aumentar la eficiencia y calidad y además reducir los costos de la producción a gran escala de los microesclerocios y conidios sumergidos de *Trichoderma*, junto con una baja contaminación y un alto rendimiento de biomasa final. Además, la fermentación sumergida es totalmente compatible con los equipos de procesamiento de posproducción para el beneficio, extracción, secado y formulación de *Trichoderma* spp., ya que utiliza los mismos equipos que la industria de fermentación líquida para otros microorganismos.



**Figura 5.** Métodos de secado de microesclerocios y conidios sumergidos de *Trichoderma* después de su producción mediante fermentación líquida sumergida. A) Secado lento en cámara con aire forzado. B) Prueba de viabilidad y producción de conidios por gránulos de microesclerocios formulados con arcilla-mineral inerte, después de 7 días de rehidratación en agar-agua (2% p/v (peso/volumen)). C) Lecho fluidizado de mesa para ensayos a escala piloto con control de flujo de atomización de solución fermentada con microesclerocios y/o conidios sumergidos de *Trichoderma* sp. y control de temperatura de secado. D) Detalle del tratamiento mediante recubrimiento de semillas de trigo en lecho fluidizado de mesa (foto de la izquierda) y, a continuación, en la foto de la derecha, detalle de la germinación de semillas acompañada del crecimiento y proliferación de *Trichoderma* sp. en medio agar-agua.

Una cuestión importante se refiere a la decisión de qué tipo de propágulo se debe utilizar para el biocontrol de fitopatógenos, lo que también dependerá de la forma de aplicación y sistema de producción del cultivo de interés. Entre las clamidosporas, los conidios y los microesclerocios, estas dos últimos tienen la capacidad de germinar en menos de 24 horas, por lo que estos propágulos son más rápidos que las clamidosporas. Además, tanto los conidios sumergidos como los microesclerocios producidos en líquido son recolectados más fácilmente para propósitos de procesamiento en formulaciones sólidas o líquidas. Sin embargo, los microesclerocios estabilizados en matrices inorgánicas, como la tierra de diatomeas, en forma de gránulos secos (< 5% de humedad final) han proporcionado una excelente vida útil ya sea a

temperatura ambiente (mínimo de 6 meses) o bajo refrigeración a 4 °C (mínimo de 12 meses) (Jackson et al., 2015 patente; Kobori et al., 2015).

La evaluación de la supervivencia de estos microesclerocios en formulación granulada se realiza mediante un ensayo de germinación vegetativa (miceliogénica) seguido de la producción de conidios (germinación esporogénica) después de su rehidratación durante un período de 7 a 10 días a 28 °C en medio agar-agua (2% p/v) (Kobori et al., 2015). En estudios no publicados, Kobori y colaboradores también comprobaron que es posible realizar un secado rápido mediante la técnica de atomización, del inglés *spray drying*, tanto de conidios sumergidos como de microesclerocios producidos en medio líquido. Estos autores también lograron concentraciones de hasta  $2 \times 10^{12}$  conidios L<sup>-1</sup> sumergidos y  $5 \times 10^7$  microesclerocios L<sup>-1</sup> en tan solo 3 días de fermentación líquida en un biorreactor de mesa de 5 L con adecuada aireación y agitación (Kobori et al., en preparación). Una patente israelí de 1989 también señala una producción de máximo  $5 \times 10^{11}$  conidios sumergidos L<sup>-1</sup> de *T. harzianum* después de 60 h de cultivos sumergidos en biorreactores de 500 L bajo iluminación constante, temperatura entre 25 y 30 °C y pH inicial entre 5,8 y 7, utilizando una composición media con fuentes de carbono y nitrógeno complejas y de bajo costo (Tabachnik, 1989 – Patente US4837155A).

La desventaja de la fermentación líquida es la inversión inicial en la compra de los sofisticados biorreactores que permiten un control sistemático de los parámetros de fermentación; sin embargo, este costo se diluye o amortiza con el tiempo de uso del equipo y con las ventajas inherentes al proceso, el cual provee economía, uniformidad entre lotes, rapidez y automatización, junto con la facilidad de escalonamiento industrial para fines de formulación y empaque.

Finalmente, cabe resaltar que la fermentación líquida sumergida es un proceso moderno y robusto, que continuará perfeccionándose en los más variados sistemas de producción de microorganismos benéficos aplicados en la agricultura. Debido a las numerosas ventajas en cuanto a costo operacional, versatilidad para producir rápidamente diferentes estructuras fúngicas de *Trichoderma*, sumado a la facilidad de automatización y escalabilidad, generando ventajas competitivas en relación a la fermentación sólido-estática, es indudable e inevitable pensar que una buena parte de las empresas de bioplaguicidas migrarán o invertirán en esta tecnología en el corto y mediano plazo. La uniformidad y calidad del producto final con un atractivo costo-beneficio son inherentes a este bioproceso y contribuirá con la expansión de la adopción de *Trichoderma* y otros hongos benéficos en la agricultura brasileña.

### Consideraciones finales

Entre los hongos, las especies de *Trichoderma* spp. son las más utilizadas comercialmente en Brasil (más de 5 millones de hectáreas tratadas) con varias biofábricas que producen



decenas de toneladas por semana de esporas de este hongo cultivadas en granos de cereales mediante fermentación en estado sólido. Es seguro decir que existe una increíble oportunidad de adopción de esta tecnología para el desarrollo de nuevas formulaciones comerciales basadas en sus propágulos sumergidos. En general, existe una gran necesidad de investigación en tecnología para la producción masiva de *Trichoderma* por fermentación líquida sumergida, así como otros hongos filamentosos benéficos que se utilizan como biocontroladores de plagas y enfermedades de plantas en Brasil. Las perspectivas con los avances en estos estudios en alianza con el sector privado, compuesto por las industrias de bioplaguicidas microbianos, son la expansión y consolidación de tecnologías de fermentación para *Trichoderma* spp.

En el aspecto biotecnológico, las formulaciones de bioplaguicidas deben apuntar a la competitividad económica frente a los productos químicos, lo que está directamente relacionado con la eficiencia del proceso productivo, la optimización y utilización de materias primas de calidad a un precio accesible. Además, a la protección y mantenimiento de la viabilidad del ingrediente activo con miras al aseguramiento de la persistencia y eficacia en el campo. Otro aspecto relevante de las bioformulaciones es la especificidad de los microorganismos que, desde el punto de vista ambiental, de salud del trabajador y hasta ahora no residual para el consumidor, es sumamente favorable.

## Referencias

- AGROFIT: consulta abierta. Brasília, DF: MAPA, 2003c. Disponible en: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acceso en: mar. 2019.
- ARORA, A.; KAUR, P.; KUMAR, M.; SAINI, V. Production of Biopesticides Namely *Trichoderma viride* and *Beauveria bassiana*. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 10, n. 26, p. 1-7, 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 8510**: Agrotóxicos e afins-Características físicas. Rio de Janeiro, 2018b. 10 p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12679**: Agrotóxicos e afins — Produtos técnicos, concentrados técnicos e formulações- Terminologia. Rio de Janeiro, 2018a. 10 p.
- CASAS-FLORES, S.; HERRERA-ESTRELLA, A. The influence of light on the biology of *Trichoderma*. In: MUKHERJEE, P. K. et al. (Eds.). *Trichoderma: biology and applications*. [S. l.]: CAB International, 2013. p. 43-66.
- CAVALCANTE, R. S.; HELDER, L. S.; PINTO, G. A. S.; GAVA, C. A. T.; RODRIGUES, S. Effect of Moisture on *Trichoderma* Conidia Production on Corn and Wheat Bran by Solid State Fermentation. **Food Bioprocess Technology**, v. 1, p. 100 -104, 2008.
- COCHRANE, F. W. **Physiology of Fungi**. New York: Wiley, 1958. 524 p.
- DANIELSON, R. M.; DAVEY, C. B. Carbon and nitrogen nutrition of *Trichoderma*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 5, n. 5, p. 505-515, 1973.
- FRIEDL, M. A.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Carbon source dependence and photostimulation of conidiation in *Hypoaea atroiridis*. **Applied Environmental Microbiology**, n. 74, p. 245- 250, 2008.
- GERVAIS, P.; MOLIN, P. The role of water in solid state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 85-101, 2003.



- HARMAN, G. E.; JIN, X.; STASZ, T. E.; PERUZZOTTI, G.; LEOPOLD, A. C.; TAYLOR, A. G. Production of conidial biomass of *Trichoderma harzianum* for biological control. **Biological Control**, n. 1, p. 23-28, 1991.
- HEWAVITHARANA, N.; KANNANGARA, S. D. P.; SENANAYAKE, S. P. Isolation, Identification and Mass production of five *Trichoderma* spp. on Solid and Liquid Carrier Media for Commercialization. **International Journal of Applied Science and Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 285- 293, 2018.
- HÖLKER, U.; HOFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advances of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Applied Microbiological Biotechnology**, v. 64, n. 2, p. 175- 186, 2004.
- JACKSON, A. M.; WHIPPS, J. M.; LYNCH, J. M. Optimizing nutritional conditions for the liquid culture production of effective fungal biological control agents. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 19, p. 180-187, 1997.
- JACKSON, M. A.; MASCARIN, G. M.; KOBORI, N. N. *Trichoderma microsclerotia and methods of making*. US Patent 9642372, 2015. 16 p.
- JACKSON, M. A.; PAYNE, A. R. Liquid culture production of fungal microsclerotia. In: GLARE, T. R.; MORAN-DIEZ, M. E. (Eds). **Microbial-Based Biopesticides: Methods and Protocols**, Methods in Molecular Biology. New York, NY: Springer Science Business Media, 2016. p. 71-83.
- JAKUBIKOVA, L.; FARKS, V.; KOLAROVA, N.; NEMCOVIC M. Conidiation of *Trichoderma atroviridae* isolate during submerged cultivation in laboratory stirred-tank fermenter. **Folia Microbiol**, v. 51, n. 3, p. 209-213, 2006.
- JENKINS, N. E.; GOETTEL, M. S. Methods for mass-production of microbial control agents for grasshoppers and locusts. In: GOETTEL, M. S.; JOHNSON, L. (Eds). **Microbial control of grasshoppers and locusts**. [Berkeley]: Entomological Society of Canada, 1997. p. 37-48. (Memoirs of the Entomological Society of Canada, n. 171).
- JIN, X.; HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G. Conidial biomass and desiccation tolerance of *Trichoderma harzianum* produced at different medium water potentials. **Biological Control**, v. 1, p. 237-243, 1991.
- JIN, X.; TAYLOR, A. G.; HARMAN, G. E. Development of media and automated liquid fermentation methods to produce desiccation-tolerant propagules of *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**, v. 7, p. 267-274, 1996.
- KOBORI, N. N.; MASCARIN, G. M.; JACKSON, M. A.; SCHISLER, D. A. Liquid culture production of microsclerotia and submerged conidia by *Trichoderma harzianum* active against damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani*. **Fungal Biology**, v. 119, n. 4, p. 179-190, 2015.
- LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. (Eds). **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2012. 92 p.
- LOPES, R. B. A indústria no Controle Biológico: Produção e Comercialização de Microorganismos no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORAN- DI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009, p. 15-28.
- MACHADO, A. C. R.; MOCHI, D. A.; MONTEIRO, A. C. Crop optimization and pre-steps standardization to get a *Bipolaris esophorbiae*-based bioherbicide. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 4, p. 392-399, 2013.
- MORAES, C.; MONTEIRO, A. C.; MACHADO, A. C. R.; BARBOSA, J. C.; MOCHI, D. A. Production of a bioherbicide agent in liquid and solid medium and in a biphasic cultivation system. **Planta Daninha, Viçosa**, v. 32, n. 2, p. 255-264, 2014.
- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.
- MUNIZ, P. H. P. C.; PEIXOTO, G. H. S.; TEIXEIRA, M. P. M.; MELLO, S. C. M.; CARVALHO, D. D. C. Produção de conídios em substrato sólido e colonização superficial por *Trichoderma harzianum*. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 5, n. 4, p. 40- 44, oct./dic. 2018.
- PAPAVIZAS, G. C.; DUNN, M. T.; LEWIS, J. A.; BEAGLE-RISTAINO, J. Liquid fermentation technology for experimental production of biocontrol fungi. **Phytopathology**, v. 74, n. 10, p. 1171-1175, 1984.
- RAIMBAULT, M. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 1, n. 3, 1998.
- SANDHYA, C.; SUMANTHA, A.; SZAKACS, G.; PANDEY, A. Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2689- 2694, 2005.
- SANTOS, P. S. Adaptações no sistema de produção do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales). 2017. 72 p. Tese (Doutorado em Ciências: Entomologia), Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

- SARGIN, S.; GEZGIN, Y.; ELTEM, R.; VARDAR, F. Micropropagule production from *Trichoderma harzianum* EGE-K38 using solid-state fermentation and a comparative study for drying methods. Turkish Journal of Biology, v. 37, p. 139-146, 2013.
- SCHMOLL, M.; ESQUIVEL-NARANJO, E. U.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* in the light of day - Physiology and development. Fungal Genetics and Biology, n. 47, p. 909-916, 2010.
- SINGHANIA, R. R.; SUKUMARAN, R. K.; PATEL, A. K.; LARROCHE, C.; PANDET, A. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases. Enzyme and Microbial Technology, v. 46, p. 541-549, 2010.
- SRIRAM, S.; ROOPA, K. P.; SAVITHA, M. J. Extended shelf-life of liquid fermentation derived talc formulations of *Trichoderma harzianum* with the addition of glycerol in the production medium. Crop Protection, v. 30, p. 1334-1339, 2011.
- STEYAERT, J. M.; WELD, R. J.; MENDOZA, A.; KRYŠTOFŮVÁ, S.; ŠIMKOVIC, M.; VAREČKA, L.; STEWART, A. Asexual development in *Trichoderma*: from conidia to chlamyospores. In: MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; SINGH, U. S.; MUKHERJEE, M.; SCHMOLL, M. (Eds.). *Trichoderma: biology and applications*. [S. l.]: CAB International, 2013. p. 87-109.
- STEYART, J. M.; WELS, R. J.; STEWART, A. Isolate-specific conidiation in *Trichoderma* in response to different nitrogen sources. Fungal Biology, n. 114, p. 179- 188, 2010.
- SYAHIDDIN, D. S. Spore Production by biocontrol agent *Trichoderma harzianum* in submerged fermentation: effect of agitation and aeration. Journal Rekayasa Kimia dan Lingkungan, v. 6, n. 2, p. 71-76, 2007.
- TABACHNIK, M. Method of growing *Trichoderma* - US 4837155 A - Israel, 1989. 5 p.
- ZABRISKIE, D. W.; ARMIGER, W. B.; PHILLIPS, D. H.; ALBANO, P. A. Trader's guide to fermentation media formulation. Memphis: Trader's protein, 2008. 60 p.



# Control de calidad de los productos biológicos hechos a base de *Trichoderma*

Zayame Vegette Pinto

Cleusa Maria Mantovanello Lucon

Wagner Bettiol

## Introducción

*Trichoderma* es el hongo más estudiado utilizado como agente de biocontrol, principalmente, de fitopatógenos habitantes del suelo y, más recientemente, como bioestimulante para la promoción del crecimiento de las plantas y aumento de su productividad (Woo et al., 2014). Como hongos de vida libre, comúnmente encontrados en el suelo y asociados con el ecosistema radicular, tienen un estilo de vida versátil (Druzhinina et al., 2011; Carreras-Villaseñor et al., 2012).

El micoparasitismo, la competencia, la antibiosis y la inducción de las respuestas de defensa de plantas son los principales mecanismos de acción de *Trichoderma* en el control de fitopatógenos (Carreras- Villasen et al., 2012). Como bioestimulante, las cepas de *Trichoderma* competentes en la colonización del sistema radicular afectan directamente la promoción del crecimiento y el aumento de la productividad de la planta. Estos efectos, mediados por *Trichoderma*, se basan en el cambio de la arquitectura del sistema radicular; solubilización, disponibilidad y uso eficiente de nutrientes; el aumento del porcentaje y la tasa de germinación de las semillas y en la estimulación de las defensas de la planta contra el daño biótico y abiótico (Contreras-Cornejo et al., 2009; Hermosa et al., 2012; Samoski et al., 2012).

*Trichoderma* spp. se caracterizan por el rápido crecimiento y producción de conidios de color verde en conidióforos ramificados. La supervivencia y dispersión de *Trichoderma* implica varios mecanismos. La producción de conidios, como parte del desarrollo asexual, es favorecida por lesiones ligeras y mecánicas, influenciada directamente por las condiciones

ambientales de crecimiento, como la disponibilidad de nutrientes y el pH (Carreras-Villasen et al., 2012). Además, hay aislados que producen microesclerocios bajo ciertas condiciones (Kobori et al., 2015).

La mayoría de los productos comerciales a base de *Trichoderma* se producen por fermentación en estado sólido, en la que el hongo produce conidios aéreos, los cuales son extraídos para su formulación (Bettiol, 2011; Woo et al., 2014). Por otro lado, se desarrollan investigaciones sobre la fermentación líquida sumergida para la producción de conidios y microesclerocios, sin que, hasta la fecha, los resultados sean comparables con la producción en estado sólido (Papavizas et al., 1984; Harman et al., 1991; Kobori et al., 2015; Locatelli et al., 2017). Los conidios y microesclerocios son estructuras que tienen mayor resistencia a condiciones adversas. De esta manera, estas estructuras se pueden utilizar como ingrediente activo de productos biológicos a base de *Trichoderma*.

En el mercado brasileño, los productos biológicos a base de *Trichoderma* se comercializan en diferentes formulaciones, como gránulo dispersable en agua, suspensión concentrada, polvo mojable, concentrado emulsionable y gel emulsionable. En el prospecto de los productos registrados se informa la concentración del propágulo del hongo, que es el ingrediente activo. Las unidades de medida utilizadas para indicar la concentración no están estandarizadas. Existen productos registrados que consideran la concentración de conidios viables y/o esporas o unidades formadoras de colonias. Además, las metodologías de análisis de conformidad y control de calidad de los productos biológicos no están estandarizadas para todos los antagonistas. Este panorama dificulta el análisis adecuado de la calidad del producto, la comparación de resultados, las pruebas y la emisión de informes en el proceso de registro (Teixeira et al., 2010).

En 2008, considerando los problemas relacionados con la calidad de los productos a base de agentes de biocontrol comercializados, así como la falta de metodologías estandarizadas en Brasil, se formó una red de investigación denominada Proyecto Qualibio (“Desarrollo de una metodología de análisis y de muestreo para la evaluación de la conformidad y seguridad de productos comerciales formulados a base de agentes microbianos”), la cual desarrolló metodologías para evaluar la conformidad y la calidad de los productos comerciales formulados a base de agentes microbianos para el control de enfermedades de plantas. El proyecto fue financiado por la convocatoria MCT/CNPq/Mapa/DAS no 64/2008; con la participación de Embrapa Medio Ambiente, Embrapa Arroz y Frijol, Instituto Biológico de São Paulo, Empresa de Investigación Agrícola de Minas Gerais, Universidad Federal de Pelotas y Comité Ejecutivo del Plan de Cultivo del Cacao (CEPLAC/CEFET).

Las metodologías desarrolladas en el ámbito del Proyecto Qualibio no fueron oficializadas por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento – Mapa, pero son utilizadas

por prácticamente todas las empresas, laboratorios e instituciones de investigación para evaluar la conformidad y calidad de los productos comerciales formulados a base de agentes microbianos para el control de enfermedades de las plantas, así como investigaciones en el área. Las metodologías fueron desarrolladas para productos a base de hongos del género *Trichoderma* y de bacterias del género *Bacillus*. Sin embargo, estas metodologías también pueden ser utilizadas para otros microorganismos antagonicos, como *Clonostachys rosea*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum*, entre otros, y también para otras bacterias, siempre que se consideren las particularidades de cada especie.

El control de calidad en todas las etapas de la cadena de producción de un agente de biocontrol es extremadamente importante para asegurar la disponibilidad de productos de calidad reconocida en el mercado y, por lo tanto, se mantenga la confianza en la eficacia de los bioproductos en los agricultores. En consecuencia, esto contribuirá a ampliar el mercado de agentes de biocontrol para el manejo integrado de plagas y enfermedades de plantas.

### **Descripción de las metodologías**

En el Proyecto Qualibio se desarrollaron metodologías para determinar el número total de conidios, el porcentaje de conidios viables y el número de unidades formadoras de colonias (UFC) para productos formulados a base de *Trichoderma* spp. (Bettiol et al., 2016).

La metodología desarrollada para determinar el número total de conidios determina la cantidad de conidios en la muestra, pero no evalúa la viabilidad de los conidios. Así, esta es complementada con la metodología desarrollada para determinar el porcentaje de conidios viables, lo cual determina el porcentaje de conidios viables en la muestra, así como su vigor con base a la germinación. Finalmente, la metodología desarrollada para determinar el número de unidades formadoras de colonias determina la cantidad de estructuras presentes en los bioproductos que son capaces de dar origen a una colonia del hongo en medio de cultivo. Es importante considerar que una colonia del hongo puede originarse a partir de un conidio, un grupo de conidios, fragmentos de hifas u otras estructuras del hongo. Así, la realización de estos análisis es complementaria, pero consideramos que la determinación de las unidades formadoras de colonias es siempre la más relevante y realista. para los agricultores.

Las metodologías, aunque sencillas, deben ser realizadas por profesionales cualificados. Así, los resultados obtenidos serán precisos. Además, el equipo utilizado debe estar siempre calibrado y en perfectas condiciones de uso.

A continuación, se describen en detalle estas tres metodologías, recordando que son complementarias entre sí.

## **Protocolo de la metodología 1: Determinación del número total de conidios en la muestra**

### **Equipos y cristalería necesarios para la realización de la metodología**

Botellas con capacidad de 250 y 1.000 mL; tubos de ensayo; tapas para tubos de ensayo; rejillas para tubos de ensayo; autoclave; balanza, agitador tipo de vórtex (para tubos de ensayo); baño de ultrasonido con frecuencia de 40 kHz; plancha agitadora; micropipeta (10 ml y  $\mu$ L); puntas estériles para micropipetas (10 ml y 1.000  $\mu$ L); Cámara de Neubauer (hemacitómetro); microscopio óptico; contador manual de conidios; agitador magnético; barra magnética.

### **Solución**

#### **Solución salina con Tween 80**

Ingredientes: NaCl P.A.: 9,0 g; agua destilada: 1000 mL; Tween 80 80: 1 mL.

Preparación: en un recipiente de 1000 mL, suspender el NaCl en 1000 mL de agua destilada y agregar Tween 80. Homogeneizar bien y autoclavar el diluyente a 121 °C y 1 atm por 20 minutos.

### **Procedimiento**

1. Las muestras deben colocarse a temperatura ambiente durante 30 a 40 minutos previos al análisis, principalmente los provenientes de formulaciones a base de aceite emulsionable.

2. Pesar 10 g del producto a evaluar en un recipiente de 250 mL y agregar 90 g de solución salina con Tween 80 (corresponde a la dilución  $10^{-1}$ ). Se deben realizar dos pesajes para cada muestra y una serie de dilución para cada pesaje. El segundo pesaje debe realizarse 10 minutos después de agregar agua a la primera muestra para obtener el mismo tiempo de hidratación.

3. Coloque el recipiente con la suspensión en un agitador orbital o plancha de agitación durante 60 minutos a por lo menos 120 rpm.

4. Coloque el recipiente con la suspensión en un baño de ultrasonido durante 5 minutos. El nivel del agua del baño de ultrasonidos debe superar el volumen de la suspensión contenida en el recipiente para garantizar el efecto vibratorio en todas las estructuras del hongo.

5. Mezclar vigorosamente el contenido del recipiente en un agitador tipo vórtex, colocando y retirando tres veces del equipo hasta observar la turbulencia total de la suspensión en cada uno de los pesajes. O colóquelo en un agitador magnético durante 5 minutos.

6. Transferir inmediatamente 1,0 mL de la suspensión contenida en el matraz ( $10^{-1}$ ) a otro tubo de ensayo con 9,0 mL de solución salina (corresponde a la dilución  $10^{-2}$ ) con ayuda de una micropipeta con punta estéril. Luego la punta es desechada.

7. Homogeneizar el contenido de la dilución  $10^{-2}$  en un agitador tipo vórtex, colocando y retirando tres veces del equipo hasta observar la turbulencia total de la suspensión en cada uno de los pesajes.

8. Para obtener la dilución  $10^{-3}$ , repetir los pasos 6 y 7 (dilución seriada), utilizando el tubo de la dilución anterior ( $10^{-2}$ ). Teniendo en cuenta la información sobre la concentración contenida en la etiqueta del producto, si es necesario, continuar la dilución seriada hasta alcanzar la dilución adecuada. Repita hasta alcanzar la dilución adecuada (generalmente  $10^{-3}$  o  $10^{-4}$ ). Para cada dilución, se debe cambiar la punta de la micropipeta.

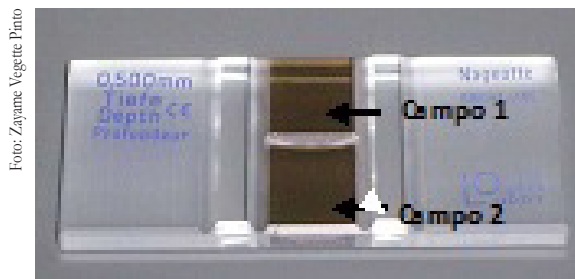
9. Mezcle el contenido del tubo de ensayo con la suspensión apropiada en un agitador tipo vórtex colocando y retirando tres veces. El tubo debe retirarse cuando se produzca la turbulencia completa.

10. Inmediatamente después de agitar, retire una alícuota representativa de la suspensión con ayuda de una micropipeta de 1000  $\mu\text{L}$ .

11. Coloque con cuidado la suspensión en la canaleta de la cámara de Neubauer previamente cubierta con un cubreobjeto, hasta llenar todo el espacio entre el cubreobjetos y la cámara de Neubauer.

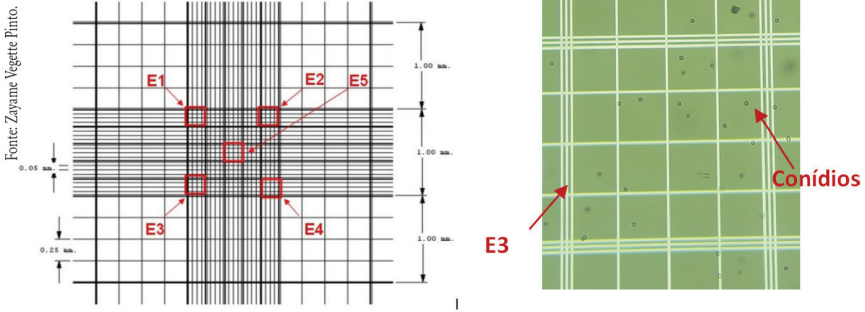
12. Antes de iniciar el conteo, dejar la cámara de Neubauer, con la suspensión de conidios, en reposo durante 5 minutos, para que los conidios precipiten, facilitando el conteo y reduciendo errores.

13. Hacer el conteo de conidios bajo microscopio óptico, a 250X o 400X aumentos, en los campos 1 y 2 de la cámara de Neubauer (Figura 1), en los cinco cuadrados (subcompartimentos) como se señala en la Figura 2, totalizando cinco conteos campo de la cámara de Neubauer (E1, E2, E3, E4 y E5). **Observación:** Muchos conidios se encuentran exactamente en las líneas de demarcación internas de los subcompartimentos. Se recomienda contar solo los conidios que se encuentran en las líneas izquierda y superior del mismo campo de observación para evitar contarlos dos veces.



**Figura 1.** Ubicación de los campos 1 y 2 en la cámara de Neubauer.





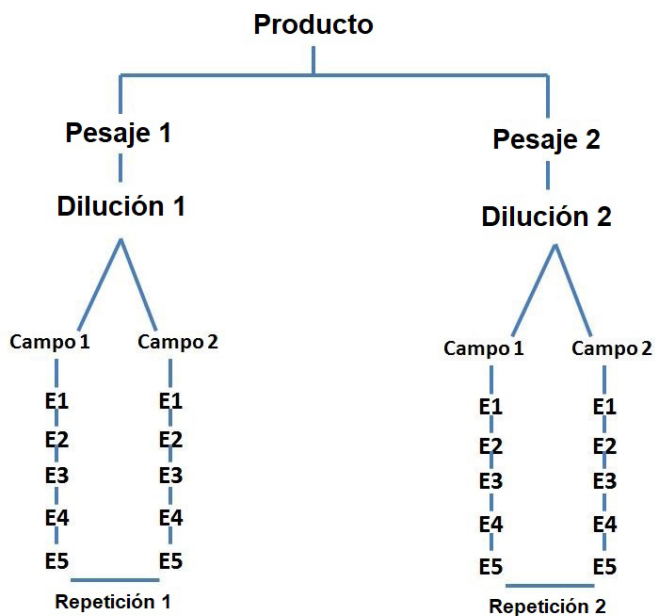
**Figura 2.** Área dentro de los subcompartimientos rojos para realizar el conteo de conidios - E1, E2, E3, E4 y E5.

### Cálculo del número de conidios

Para determinar el número de conidios, utilice la fórmula:  $\text{Número de conidios/mL} = \left\{ \left[ \frac{(\text{Campo 1} + \text{Campo 2})}{2} \right] \times 2,5 \times 10^5 \right\}$ , donde:  $\text{Campo 1} = \frac{(E1+E2+E3 +E4+ E5)}{5}$  y  $\text{Campo 2} = \frac{(E1+E2+E3+E4+E5)}{5}$ . Cuando se utiliza la dilución  $10^{-3}$ , el resultado del número de conidios/mL se multiplica por  $10^3$  y cuando se utiliza la dilución  $10^{-4}$ , el resultado se multiplica por  $10^4$ . **Observación:** dentro del proyecto Qualibio fue desarrollado el software CALIBRA, que está disponible para copia en el sitio web de Embrapa Medio Ambiente. Este software realiza cálculos y almacena información para la elaboración de informes. La sugerencia es que siempre se use CALIBRA para mayor facilidad y precisión en los análisis.

### Repetición

El producto se debe pesar dos veces y se debe realizar una serie de diluciones en serie para cada pesaje. En el segundo pesaje, la solución salina debe colocarse 10 minutos después del primer pesaje para evitar la diferencia en la hidratación de los conidios. La dilución seleccionada, generalmente  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ , debe colocarse en la cámara de Neubauer para realizar el conteo del número total de conidios presentes en la muestra (Figura 3).



**Figura 3.** Esquema de las repeticiones utilizadas en la metodología de análisis de calidad - número total de conidios contenidos en la muestra.

## Protocolo de la metodología 2:

### Determinación del número de conidios viables en la muestra

#### Equipos y cristalería

Recipientes con capacidad de 100, 250 y 1.000 mL; tubos de ensayo; tapas de tubo de ensayo; autoclave; balanza, agitador tipo vórtex (tubo de ensayo); baño de ultrasonidos con una frecuencia de 40 kHz; plancha agitadora para matraces; incubadora operando a  $25 \pm 2$  °C (BOD); micropipeta para volúmenes de 10 mL, 15  $\mu$ L y 1000  $\mu$ L; puntas estériles para micropipetas (10 mL, 15  $\mu$ L y 1000  $\mu$ L); placas Petri esterilizadas; agitador magnético; barra magnética esterilizada.

#### Soluciones

##### Solución salina con Tween 80

Ingredientes: NaCl P.A.: 9,0 g; agua destilada: 1000 mL; Tween 80: 1 ml.

Preparación: en un matraz de 1000 mL, suspender NaCl en 1000 mL de agua destilada y agregar Tween 80. Homogeneizar bien y autoclavar el diluyente a 121 °C y 1 atm por 20 minutos.

## **Azul de lactofenol**

Ingredientes: fenol 20 g; ácido láctico 20 g; agua destilada 20 g; glicerol 40 g; azul de metilo (o azul de algodón o azul de tripano) 0,1 g.

Preparación: añadir los ingredientes en un matraz y homogeneizar durante 5 minutos en un agitador magnético dentro de una campana de gases. Utilizar el EPI adecuado. Otra opción es comprar el producto preparado en el mercado.

## **Medio de cultivo**

### **Medio Agar Papa Dextrosa (PDA)**

Ingredientes: medio comercial Agar Papa Dextrosa: recomendación del fabricante; agua destilada: 1000 ml.

Preparación: en matraces, mezclar el agua destilada con el medio PDA y autoclavar a 121 °C a 1 atm durante 20 minutos. Vierta aproximadamente 10 ml del medio por placa desechable estéril. Después de que el medio se haya solidificado, las placas se deben invertir e incubar a  $25 \pm 2$  °C durante la noche para secar y evaluar la esterilidad del medio. Las placas preparadas con PDA se pueden almacenar en un lugar oscuro bajo refrigeración (2-8°C) durante siete días. Observación: Todo el material de vidrio y las soluciones deben ser esterilizadas en autoclave antes de su uso.

## **Procedimiento**

1. Las muestras a analizar deben colocarse a temperatura ambiente durante 30 a 40 minutos antes de comenzar el análisis, especialmente aquellas que provienen de una formulación a base de aceite emulsionable.

2. Pesar 10 g del producto a analizar en un matraz de 250 mL y agregar 90 g de solución salina con Tween 80 (correspondiente a una dilución  $10^{-1}$ ). Se deben realizar dos pesajes para cada muestra y una serie de diluciones para cada pesaje. El segundo pesaje debe realizarse 10 minutos después de colocar agua en la primera muestra para obtener la misma hidratación.

3. Coloque el matraz con la suspensión en un agitador orbital o placa de agitación durante 60 minutos a por lo menos 120 rpm.

4. Coloque el matraz con la suspensión en un baño de ultrasonido durante 5 minutos. El nivel del agua del baño de ultrasonido debe superar el volumen de la suspensión contenida en el matraz para garantizar el efecto vibratorio en todas las estructuras del hongo.

5. Mezclar vigorosamente el contenido del matraz en un agitador tipo vórtex, colocando y retirando tres veces del equipo hasta observar la turbulencia total de la suspensión en cada uno de los pesajes. O colóquelo en un agitador magnético durante 5 minutos.

6. Transferir inmediatamente 1,0 mL de la suspensión contenida en el matraz ( $10^{-1}$ ), con la ayuda de una micropipeta con punta estéril, a un tubo de ensayo que contenga 9,0 mL de

solución salina (corresponde a la dilución  $10^{-2}$ ). Descartar la punta de la micropipeta.

7. Homogeneizar el contenido de la dilución  $10^{-2}$  en un agitador tipo vórtex (tubo de ensayo), colocando y retirando tres veces del equipo hasta observar la turbulencia total de la suspensión en cada pesaje.

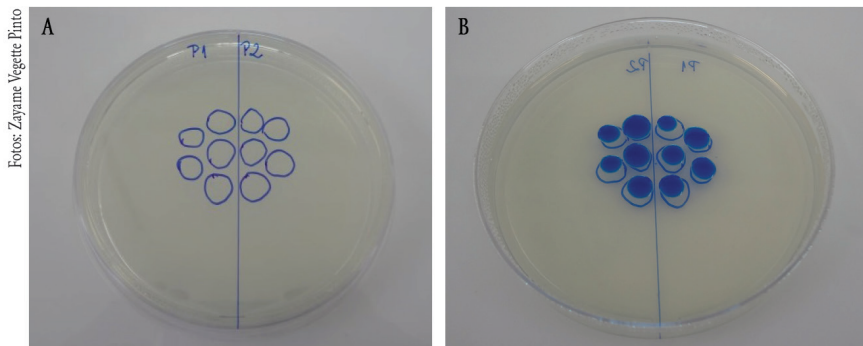
8. Para obtener la dilución  $10^{-3}$ , repetir los pasos 6 y 7 (dilución seriada), utilizando el tubo de la dilución anterior ( $10^{-2}$ ). Teniendo en cuenta la información sobre la concentración contenida en la etiqueta del producto, si es necesario, continuar la dilución seriada hasta alcanzar la dilución adecuada. Repita hasta alcanzar la dilución adecuada (generalmente  $10^{-3}$  o  $10^{-4}$ ). Para cada dilución, se debe cambiar la punta de la micropipeta.

9. Mezclar el contenido del tubo de ensayo con la suspensión apropiada en un agitador tipo vórtex colocando y retirando tres veces. El tubo debe retirarse cuando se produzca la turbulencia completa.

10. Pipetear inmediatamente después de la agitación, cinco alícuotas de 15  $\mu$ L de dos de las diluciones apropiadas (generalmente de  $10^{-3}$  y/o  $10^{-4}$ ), y transferir inmediatamente a placas de Petri que contengan medio PDA en cinco puntos previamente definidos y delimitados (Figura 4A). Repita este paso para una tabla más.

11. Transferir e incubar las placas a BDO a  $25 \pm 2$  °C en la oscuridad.

12. Después de 9 horas de incubación, verificar la germinación de los conidios cada dos horas, hasta 20 horas después de la siembra, dependiendo del producto (el momento ideal varía de acuerdo con las características de la especie, cepa y formulación del producto, sin embargo, en promedio tarda 16 horas). En este momento, coloque una gota de azul de lactofenol (8  $\mu$ L) en cada punto (lugar donde se colocó la dilución adecuada) con la suspensión (cinco puntos por placa) (Figura 4B).



**Figura 4.** Caja Petri con medio PDA con marcas en los lugares donde serán colocados los 15  $\mu$ L de la suspensión para análisis de viabilidad (A). Gotas con lactofenol después de 16 horas de incubación (B).

13. Contar el número de conidios viables, germinados y activos no germinados y no viables (no germinados), como se muestra en la Figura 5, en cinco puntos utilizando un microscopio óptico con un aumento de 200X a 400X. Para mayor confiabilidad, se deben contar al menos 100 conidios por área delimitada. Calcule la tasa de viabilidad promedio utilizando la fórmula:

El cálculo debe realizarse para cada gota de cada dilución de las dos pesadas, por separado. Posteriormente, obtenga la media aritmética de cada pesaje

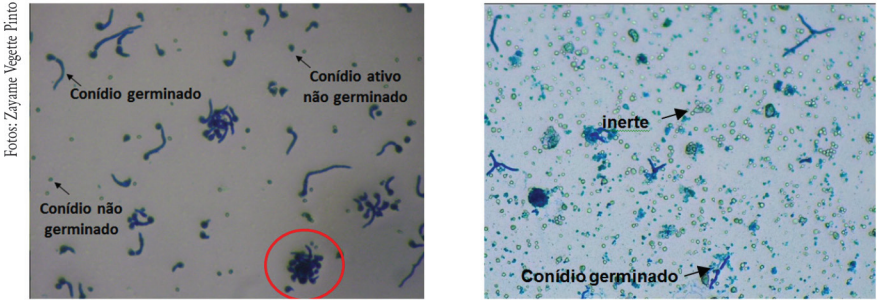


Figura 5. Aspecto al microscopio óptico: del inerte utilizado en la formulación, de conidios viables, germinados y activos, y no germinados de *Trichoderma* sp.

### Repetición

Deben hacerse dos pesajes del producto (paso 2) y en cada pesaje se debe realizar una serie de diluciones seriadas (pasos 6, 7 y 8). En el segundo pesaje, la solución salina debe colocarse 10 minutos después del primer pesaje para evitar una diferencia en la hidratación de los conidios. De la dilución seleccionada, se deben colocar cinco gotas por placa en dos placas diferentes (Figura 6).

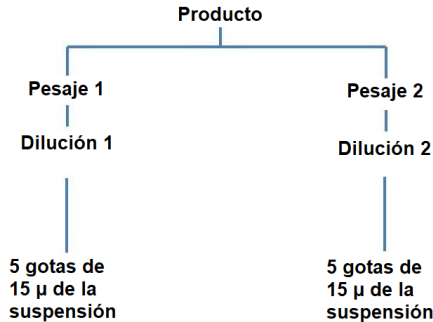


Figura 6. Esquema de repeticiones utilizado en la metodología de análisis de calidad – viabilidad de conidios.

## **Protocolo de la metodología 3: Determinación del número de unidades formadoras de colonias en la muestra**

### **Equipos y cristalería**

Matraz con capacidad de 250 y 1.000 mL; tubos de ensayo; tapa de tubo de ensayo; gradilla para tubos de ensayo; autoclave; balanza; agitador tipo vórtex (tubo de ensayo); baño de ultrasonido con una frecuencia de 40 kHz; placa de agitación para matraces; incubadora funcionando a  $25 \pm 2$  °C (BOD); micropipeta para volúmenes de 10 mL, 20  $\mu$ L, 100  $\mu$ L y 1000  $\mu$ L; puntas estériles para micropipetas (10 mL, 20  $\mu$ L, 100  $\mu$ L y 1000  $\mu$ L); placas de Petri desechables estériles; asa de Drigalski esterilizada; agitador magnético; barra magnética estabilizada; microscopio óptico; portaobjetos para microscopía y cinta adhesiva transparente.

### **Solución**

#### **Solución salina con Tween 80**

Ingredientes: NaCl P.A.: 9,0 g; agua destilada: 1000 mL; Tween 80: 1 mL.

Preparación: en un matraz de 1000 mL, suspender NaCl en 1000 mL de agua destilada y agregar Tween 80. Homogeneizar bien y autoclavar el diluyente a 121 °C y 1 atm durante 20 minutos.

### **Medio de cultivo**

**Medio de Agar Papa Dextrosa (PDA+T).** Ingredientes: Medio comercial Agar Papa Dextrosa agar: recomendación del fabricante, 1 mL de Triton X-100 y agua destilada: 1.000 mL.

Preparación: el método de preparación del medio debe seguir las recomendaciones del fabricante. En un matraz, mezclar agua destilada y Triton X-100 (reductor de colonias) con medio Agar Papa Dextrosa y autoclavar a 121 °C a 1 atm durante 20 minutos. Vierta aproximadamente de 15 a 20 ml por placa desechable estéril. Después de que el medio se haya solidificado, las placas se deben invertir e incubar a  $25 \pm 2$  °C durante la noche para secar y evaluar la esterilidad del medio. Las placas preparadas con PDA+T pueden ser almacenar en un lugar oscuro y en refrigeración (2-8 °C) durante siete días. **Observación:** previo a su uso, todo el material de vidrio y las soluciones deben esterilizarse en autoclave.

### **Procedimiento**

#### **Prueba de microgotas:**

1. As muestras a analizar deben ser colocadas a temperatura ambiente durante 30 a 40 minutos antes de iniciar el análisis, especialmente aquellas provenientes de una formulación base aceite emulsionable.

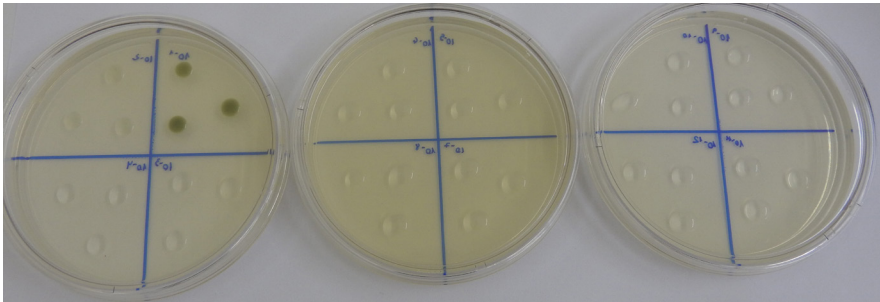
2. Pesar 10 g del producto a analizar en un matraz de 250 mL y completar con 90 g de solución salina con Tween 80 (correspondiente a la dilución  $10^{-1}$ ). Se deben realizar dos pesajes por cada muestra y dos series de diluciones por cada pesaje. El segundo pesaje debe realizarse 10 minutos después de agregar agua a la primera muestra para obtener el mismo tiempo de hidratación.
3. Colocar el matraz con la suspensión en un agitador orbital o plancha de agitación durante 60 minutos a por lo menos 120 rpm.
4. Colocar el matraz con la suspensión en un baño de ultrasonido durante 5 minutos. El nivel del agua del baño de ultrasonidos debe sobrepasar el volumen de la suspensión contenida en el matraz para garantizar el efecto vibratorio en todas las estructuras del hongo.
5. Mezclar vigorosamente el contenido del matraz en un agitador tipo vórtex, colocando y retirando tres veces del equipo hasta observar la turbulencia total de la suspensión en cada uno de los pesajes. O colóquelo en un agitador magnético durante 5 minutos.
6. Transferir inmediatamente 1,0 mL de la suspensión contenida en el matraz ( $10^{-1}$ ) a un tubo de ensayo que contiene 9,0 mL de solución salina (corresponde a la dilución  $10^{-2}$ ) con la ayuda de una micropipeta con punta estéril. Luego desecha la punta.
7. Homogeneizar el contenido de la dilución  $10^{-2}$  en un agitador tipo vórtex, colocando y retirando tres veces del equipo hasta observar la turbulencia total de la suspensión en cada uno de los pesajes.
8. Para obtener la dilución  $10^{-3}$ , repetir los pasos 6 y 7 (dilución seriada), utilizando el tubo de la dilución anterior ( $10^{-2}$ ). Teniendo en cuenta la información sobre la concentración contenida en la etiqueta del producto, si es necesario, continuar la dilución seriada hasta la dilución adecuada. Haga esto repetidas veces hasta alcanzar la dilución adecuada (una dilución por encima de la concentración mencionada por el fabricante) (Tabla 1). Para cada dilución, se debe cambiar la punta de la micropipeta.

**Tabla 1.** Dilución seriada máxima de la muestra que se debe realizar para obtener la dilución adecuada.

Concentración reportada por el fabricante	Diluir hasta
$10^5$	$10^{-6}$
$10^6$	$10^{-7}$
$10^7$	$10^{-8}$
$10^8$	$10^{-9}$
$10^9$	$10^{-10}$
$10^{10}$	$10^{-11}$
$10^{11}$	$10^{-12}$

9. Delimitar cuatro cuadrantes en la parte externa de la base de las placas que contienen el medio PDA, usando un marcador de tinta indeleble, como se muestra en la Figura 7.
10. Mezclar el contenido del tubo de ensayo con la suspensión adecuada en un agitador tipo vórtex colocando y retirando tres veces. El tubo debe retirarse cuando se produzca una turbulencia completa.
11. Inmediatamente después de tres agitaciones vigorosas en un agitador tipo vórtex, pipetear tres alícuotas de 20  $\mu\text{L}$  de cada dilución preparada sobre la superficie del medio PDA en cada uno de los cuadrantes (Figura 7). En cada placa es posible depositar cuatro de las diluciones de la serie realizada.

Foto: Zayane Vegette Pinto

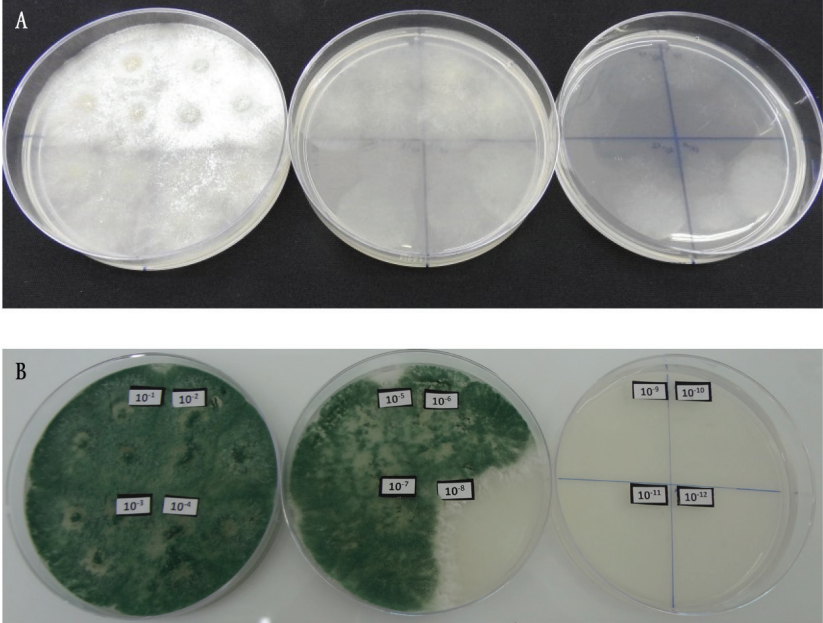


**Figura 7.** Aspecto de cajas Petri con medio PDA, divididas en cuatro cuadrantes, con tres alícuotas de 20  $\mu\text{L}$  de doce diluciones de la muestra del bioproducto.

12. Después de sembrar las alícuotas, los tubos con las diluciones deben mantenerse en refrigeración ( $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por un máximo de 48 horas para ser utilizados en la determinación del número de unidades formadoras de colonias.
13. Antes de incubar las suspensiones, esperar que los 20  $\mu\text{L}$  de cada dilución sean absorbidos por el medio de cultivo. Luego transfiera las placas a BOD durante 24 a 48 horas a  $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  en la oscuridad.
14. Después de dos días, observar en qué diluciones hubo crecimiento de colonias del hongo y seleccionar las tres últimas diluciones que mostraron el crecimiento del hongo en las tres gotas, de los dos pesajes realizados, para determinar el número de unidades formadoras de colonias (Figura 8).



Fotos: Zayane Végette Finto.

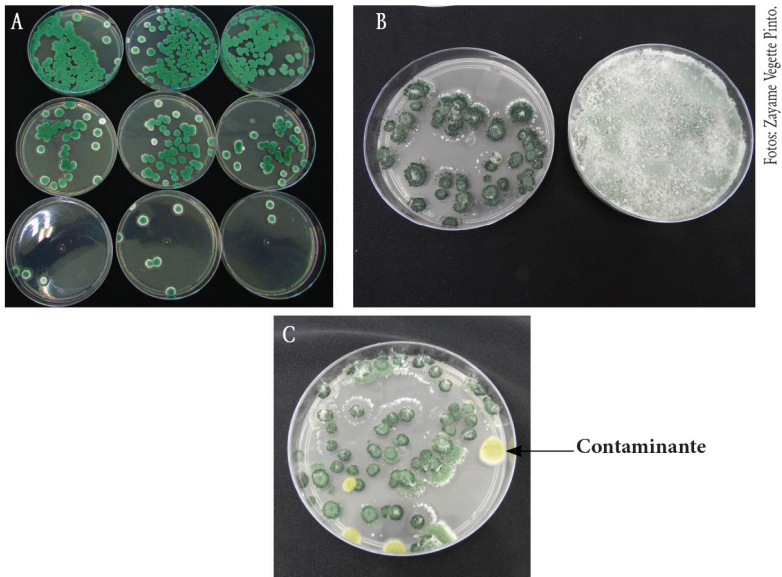


**Figura 8.** Crecimiento de *Trichoderma* en placa con medio PDA en el ensayo de microgotas. A=48 h y B= 96 h de incubación.

### Determinación del número de unidades formadoras de colonias (UFC) en la muestra

1. Retirar los tubos de cultivo con las diluciones seriadas de la refrigeración 30 a 40 minutos antes del inicio del análisis.
2. Agitar vigorosamente el contenido de los tubos de cultivo con las diluciones elegidas en un agitador tipo vórtex, colocando y retirando tres veces. El tubo debe retirarse cuando se produzca una turbulencia.
3. Con una micropipeta con punta estéril, transferir 100 µL de cada dilución, previamente seleccionada según el resultado de la prueba de microgotas, a la superficie de cinco cajas Petri que contienen el medio de cultivo BDA + Triton X-100. Deseche la punta al final de la placa de dilución.
4. Distribuir uniformemente sobre la superficie del medio con un asa de Drigalski estéril inmediatamente después de la transferencia. Para cada grupo de cinco placas en cada dilución, use un asa Drigalski.

5. Hacer una placa de control antes de iniciar el paso 3, esparciendo 100  $\mu$ L de solución salina estéril con Tween 80 en una placa que contenga medio de cultivo (PDA + T), con un asa de Drigalski estéril.
6. Incubar los cultivos a  $25 \pm 2$  °C, en la oscuridad, durante 48 y/o 72 horas.
7. Después de la incubación, cuente el número de colonias desarrolladas (Figura 9) y verifique, de acuerdo con las características del hongo, si las colonias formadas son realmente el *Trichoderma* presente en el producto biológico, visualizando la colonia en la placa y las estructuras del hongo bajo un microscopio óptico.



**Figura 9.** Aspecto macroscópico de las colonias de *Trichoderma harzianum* para la realización del conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC): (A) crecimiento de UFC en tres diluciones; (B) izquierda: placa con medio de cultivo PDA que contiene reductor de colonias y derecha: placa con medio de cultivo PDA sin reductor de colonias; (C) apariencia de la colonia contaminante en la placa.

8. Para observar las estructuras del hongo al microscopio óptico se puede utilizar la técnica de la cinta adhesiva transparente. Para ello presione con cuidado la parte adhesiva sobre la colonia desarrollada en la placa Petri que contiene el medio de cultivo, retire con cuidado y transfiera la cinta con las estructuras adheridas a un portaobjeto de microscopía, con el lado adhesivo sobre el portaobjeto. Observe las estructuras fúngicas (generalmente conidióforos y conidios) bajo un microscopio

óptico con un aumento de 200 a 400X (Figura 10). Compare las estructuras con figuras y descripciones de publicaciones sobre el género *Trichoderma*.

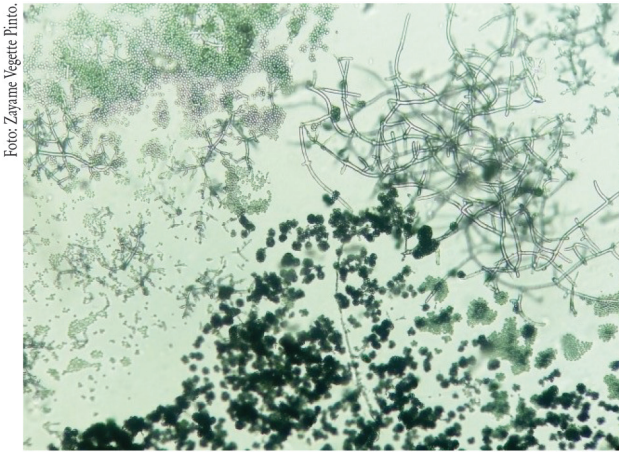


Foto: Zayana Vegette Pinto.

Figura 10. Aspecto microscópico de las estructuras de *Trichoderma harzianum*.

### Repetición

El producto debe ser pesado dos veces (paso 2) y se deben realizar dos series de dilución para cada pesaje (paso 6). De las tres diluciones seleccionadas, se deben colocar en placa cinco réplicas por dilución (paso 3) (Figura 11).

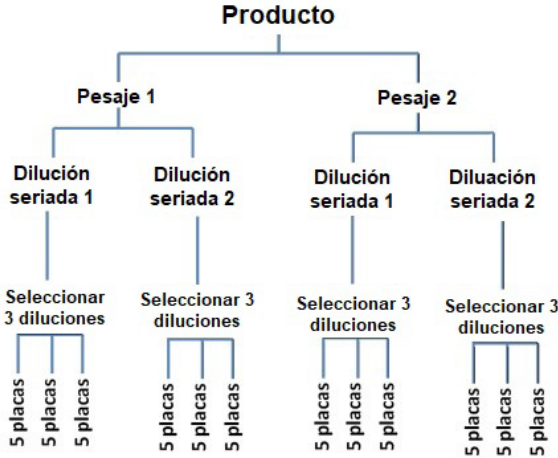


Figura 11. Esquema de repeticiones utilizadas en la metodología de análisis de calidad - unidades formadoras de colonias.

## **Determinación del número de unidades formadoras de colonias**

Contar el número de colonias por placa, a las 72 y/o 96 horas, y determinar el número de acuerdo con la fórmula:

El cálculo debe realizarse por separado para cada placa de los dos pesajes. Posteriormente, se calcula la media aritmética de cada pesaje.

## **Pasos comunes a las metodologías: almacenamiento y limpieza de muestras**

Inmediatamente después de los análisis, las muestras deben ser selladas y almacenadas según las recomendaciones del fabricante hasta la fecha de caducidad. El almacenamiento, en condiciones apropiadas, es importante en caso de que sea necesario repetir los procedimientos. Después de este período o, si no hay más interés en las muestras, deben esterilizarse en autoclave a 120 °C durante 20 minutos y luego desecharse. En el caso de un producto comercial, existe la necesidad de cumplir con las normas de eliminación de envases.

Antes y después de realizar el análisis, es imprescindible la limpieza de las instalaciones. En este caso, se sugieren los procedimientos estándares de cada institución, siempre cumpliendo con las buenas prácticas de laboratorio.

## **Uso de la metodología en el proceso productivo**

Después de obtener la cepa que será registrada y comercializada, el proceso de producción tiene algunos pasos básicos que se pueden dividir en: 1a - mantenimiento/preservación de la matriz (ingrediente activo de la formulación); 2a - producción de inóculo con miras a la producción a gran escala; 3a - producción en masa por fermentación líquida, sólida y/o bifásica; 4a - procesamiento/formulación; 5a - preparación de lotes y envasado (embalaje); 6a - transporte/comercialización; 7a - control de calidad (que involucra prácticamente todas las fases); 8a - asuntos regulatorios; y 9a - investigación y desarrollo (Tabla 2).

Las metodologías desarrolladas en el Proyecto Qualibio pueden ser utilizadas en las diferentes etapas de la elaboración de productos a base de *Trichoderma*. En la producción del inóculo se puede utilizar el conteo de conidios para calibrar la suspensión que se agregará al sustrato para la producción en masa. En la producción y procesamiento en masa se pueden utilizar metodologías de conteo de conidios, unidades formadoras de colonias y viabilidad, con el objetivo de monitorear el proceso, detectando posibles contaminaciones y fallas de manera rápida para adecuar el ingrediente activo de acuerdo al registro. Al final del proceso

productivo, en el control de calidad, se pueden utilizar las metodologías del número de conidios viables y unidades formadoras de colonias con el objetivo de monitorear para garantizar la calidad de cada lote. No existen regulaciones sobre el seguimiento de los lotes dentro del período de validez. Así, cada empresa estipula la periodicidad de sus análisis. Los resultados deben ser los mismos que los indicados en la etiqueta y, en caso de incumplimiento, se debe retirar el lote. Todo este control garantizará la confianza del consumidor y la seguridad con los organismos de inspección.

Además del proceso de producción, las metodologías se pueden utilizar en las áreas de regulación, inspección e investigación y desarrollo. Las pruebas de microgotas y la de viabilidad de conidios son muy útiles para el desarrollo de la formulación de la cepa. El conteo de unidades formadoras de colonias y el conteo de conidios son vitales para las pruebas de vida útil de nuevos productos y para el proceso de registro de productos ante los organismos competentes, entre otros.

Considerando todos estos aspectos, es fundamental que las empresas mantengan en su plantilla, personas capacitadas en las metodologías, así como instalaciones adecuadas para la realización de pruebas de calidad de los productos.

**Tabla 2.** Uso de metodologías de evaluación de calidad para productos a base de *Trichoderma* en el proceso de producción.

Proceso	Metodología usada	Función
Preservación/Mantenimiento de Matriz	-	-
Producción de inóculo	Contaje de conidios	Calibración del inóculo
Producción en masa	Viabilidad de los conidios	Monitoreo de la producción
Procesamiento/Formulación	Contaje de conidios Viabilidad de los conidios Unidades formadoras de colonias	Monitoreo de la producción Evaluación de la concentración del producto.
Preparación del lote/empaquetado (embalaje)	-	-
Transporte / comercialización	-	-
Control de calidad	Unidades formadoras de colonias Contaje de conidios Viabilidad de los conidios	Monitoreo de la vida útil*
Regulatorio	Unidades formadoras de colonias Contaje de conidios Viabilidad de los conidios	Registro del producto
Investigación y desarrollo	Contaje de conidios Viabilidad de los conidios Unidades formadoras de colonias	Mejorar el proceso de producción Prueba de formulación Desarrollo de nuevos productos Pruebas de eficiencia de campo para el control biológico de enfermedades y promoción de crecimiento de las plantas/aumento de la productividad del cultivo

\*La metodología utilizada depende del registro.

## Consideraciones finales

La tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) del mercado de bioplaguicidas, ya sean micro o macroorganismos, crece alrededor de 17% al año en Brasil y en todo el mundo. Este aumento en el consumo de productos formulados que contienen agentes de control biológico ha provocado el aumento de la calidad de los productos biológicos disponibles, aumentado la oferta de nuevos productos en el mercado, establecido estándares de registro adecuados para los productos que contienen agentes de control biológico, estimulado la inversión en investigación y desarrollo, estimulado la creación de nuevas empresas en el sector y también aumentado la formación de profesionales en el área. El crecimiento de esta cadena productiva ha llevado a los organismos reguladores a comprender los modos de acción de los agentes de biocontrol y con ello, importantes logros en el área regulatoria, como el registro por objetivo biológico y la eliminación del uso de los símbolos de calavera y tibias cruzadas en las etiquetas, el prospecto y envases de productos de Clase Toxicológica III y IV. Las instituciones de investigación y de apoyo a la investigación también están invirtiendo en el desarrollo de nuevas investigaciones con control biológico. Esta mayor inversión ha propiciado la creación de nuevos grupos de investigación en el área en Brasil.

El crecimiento del sector, en consecuencia, ha contribuido con la estimulación de la integración del control biológico en los sistemas de manejo de plagas y enfermedades de plantas, con importantes beneficios para la sociedad, ya que está conllevando a la reducción en el uso de pesticidas químicos en la agricultura.

El crecimiento del mercado mundial de bioplaguicidas está indudablemente relacionado con el control de calidad de los productos biológicos, ya que aumenta la confianza de los agricultores a adquirir este tipo de productos. También ha reducido la oferta de productos que no cumplen las garantías exigidas por los Órganos registradores, ya que sin un control eficiente de los productos registrados se dificulta la venta de productos de baja calidad.

La estandarización de metodologías para análisis de cumplimiento y control de calidad de productos biológicos por parte de los Órganos competentes, facilitará la inspección, registro de productos biológicos, análisis de concentración por los laboratorios y comparación de resultados de investigaciones en el área, así como una mayor comprensión por parte de los usuarios.

Además de las pruebas de concentración del ingrediente activo de los productos a base de agentes de control biológico, se deben incluir otras pruebas en el control de calidad, como la eficiencia/estabilidad de la cepa; presencia de contaminantes y estabilidad de la formulación, entre otros. Estos pasos serán cada vez más requeridos por el mercado de consumo. Con el avance de las investigaciones sobre la fermentación líquida y los metabolitos producidos por *Trichoderma*, se deben desarrollar nuevas metodologías de control de calidad, que

además de vigilar la concentración del hongo, busque establecer la concentración de ciertas sustancias presentes en la formulación con acción antagonica a los fitopatógenos producida por *Trichoderma*.

## Glosario

**Conidios:** estructura reproductiva no sexual de los hongos.

**Conidios activos o en proceso de germinación:** los conidios que han aumentado de tamaño con relación a los no germinados, pero que aún no han emitido un tubo germinativo.

**Conidio germinado:** el conidio presenta un tubo germinativo al menos tan largo como el tamaño del conidio.

**Conidios inactivos:** conidios no viables.

**Conidios no germinados:** conidios que pueden o no estar viables, pero que no han formado un tubo germinativo con por lo menos la misma longitud de los conidios.

**Conidios viables:** conidios activos y germinados.

**Conidióforo:** estructura fúngica productora de conidios en el hongo.

**Gránulos:** tipo de formulación de productos biológicos en forma de gránulos que se descomponen en presencia de agua.

**Polvo mojable:** tipo de formulación de productos biológicos compuesta por el principio activo y una sustancia inerte que permite mezclarse con agua, formando suspensiones provistas de gran estabilidad.



## Referencias

- BETTIOI, W. Biopesticides use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v.22: p.280-283, 2011.
- BETTIOI, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Avaliação da qualidade de produtos à base de *Trichoderma***. Apostila. Disponible en: <[http://www.cnpma.embrapa.br/down\\_site/forum/2012/Trichoderma/Apostila\\_Trichoderma\\_2012.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/down_site/forum/2012/Trichoderma/Apostila_Trichoderma_2012.pdf)>. Acceso en: jul. 2016.
- CARRERAS-VILLASEÑOR, N.; SÁNCHEZ-ARREGUÍN, J. A.; HERRERA-ESTRELLA, A. H. *Trichoderma*: sensing the environment for survival and dispersal. **Microbiology**, v. 158, p. 3-16, 2012.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C.; LÓPEZ-UCIO, J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 149, p. 1579-1592, 2009.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B.A.; KERNERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v.16, p. 749-59. 2011.
- HARMAN, G. E.; JIN, X.; STASZ, T. E.; PERUZZOTTI, G.; LEOPOLD, A. C.; TAYLOR, A. G. Production of conidial biomass of *Trichoderma harzianum* for biological control. **Biological Control**, v. 1, p. 23-28, 1991.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, p. 17-25, 2012.
- KOBORI, N. N.; MASCARIN, G. M.; JACKSON, M. A.; SCHISLER, D. A. Liquid culture production of microsclerotia and submerged conidia by *Trichoderma harzianum* active against damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani*. **Fungal Biology**, v. 119, p. 179-190, 2015.
- LOCATELLI, G. O.; FINKLER, C. L. L.; MASCARIN, G. M.; LOBO JUNIOR, M.; BUENO, L. A. Optimization of microsclerotia production by *Trichoderma asperellum*. In: SIMPOSIO NACIONAL DE BIOPROCESSO, 21.; SIMPOSIO DE HIDROLISE E ENZIMÁTICA DE BIOMASSA, 12., 2017, Aracaju, SE. [Anais...]. São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Química, 2017. Disponible en: <<https://ainfo.cnpia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164065/1/CNPAF-2017-snb.pdf>>. Access en: feb. 2019.
- PAPAVIZAS, G. C.; DUNN, M. T.; LEWIS, J. A.; BEAGLE-RISTAINO, J. Liquid fermentation technology for experimental production of biocontrol fungi. **Phytopathology**, v. 74, v. 1171-1175, 1984.
- SAMOLSKI, I.; RINCÓN, A. M.; PINZÓN, L. M.; VITERBO, A.; MONTE, E. The *gid74* gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**, v. 158, p. 129-38, 2012.
- TEIXEIRA, H.; BETTIOI, W.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PINTO, Z. V.; LEHNER, M. S.; FREITAS, M. M. Q.; REZENDE, L.C. Conformidade e qualidade de produtos biológicos para o controle de doenças de plantas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica**. Viçosa: UR. Epamig ZM, 2010. p. 101-112.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGIANELLO, G.; LORTO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014.





# Uso de micro y nanotecnología con *Trichoderma*

*Leonardo Fernandes Fraceto*

*Cintia Rodrigues Maruyama*

*Mariana Guilger-Casagrande*

*Natalia Bilesky-José*

*Renata de Lima*

## Introducción

Como alternativa a los efectos negativos del uso incorrecto de plaguicidas en el control de plagas y enfermedades de plantas han surgido actividades que usan el control biológico, que se destaca por su eficiencia y reducido impacto ambiental (Lima; Gravina, 2009; Moura et al., 2009; Pazini; Galli, 2011; Parra, 2014).

Entre los diferentes organismos utilizados en el control biológico, los hongos *Trichoderma* spp. son encontrados en varios tipos de suelo, pero principalmente en aquellos con alto contenido de materia orgánica (Schuster; Schmoll, 2010). *Trichoderma* spp. tienen mecanismos de acción basados en la producción de metabolitos antifúngicos, micoparasitismo y competencia por espacio y nutrientes (Shoresh et al., 2005; Fabry et al., 2006; Lucon et al., 2008; Vinale et al., 2008; Wijesinghe et al., 2008; Wijesinghe et al., 2011). Por lo tanto, su uso como agente de control biológico muestra eficiencia contra patógenos de raíces, como *Meloidogine javanica*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Phytophthora* spp., (Naseby et al., 2000; Thrane et al., 2000; Sharon et al., 2001; Cúndom et al., 2003; Ezziyyani et al., 2007), así como contra patógenos que afectan la parte aérea de las plantas, como *Venturia* spp., *Botrytis* spp., *Crinipellis perniciososa* (Hjeljord et al., 2001; Sonogo et al., 2002; Lisboa et al., 2007).

Además de las acciones que implican el contacto directo entre el antagonista y el fitopatógeno, *Trichoderma* spp. (*Hypocreales: Hypocreaceae*) también induce la activación de los mecanismos de defensa de plantas mediante la liberación de péptidos, proteínas y compuestos de bajo peso molecular, promoviendo el crecimiento de las raíces y la salud de la

planta (Reino et al., 2008; Mastouri et al., 2012; Sharma et al., 2012). Debido a estos efectos, *Trichoderma* spp. se utiliza para el control de fitopatógenos como *Sclerotinia sclerotiorum* (Zancan et al., 2012), *Alternaria alternata* (Gveroska, Ziberoski, 2012), *Rhizopus stolonifer* (Bomfim et al., 2010), *Bipolaris* spp., *Cladosporium* spp. (Machado; Silva, 2013), y su eficacia ha sido científicamente comprobada. Sin embargo, se necesitan más estudios porque, al igual que otros agentes de control biológico, la efectividad de este hongo puede estar influenciada por las variaciones ambientales y del ecosistema (Benítez et al., 2004).

De esta forma, el control biológico tiene numerosas ventajas, pero algunos problemas han limitado su uso, entre ellos la sensibilidad del organismo a la radiación, la humedad inadecuada y la baja estabilidad térmica, factores que provocan la baja biopersistencia de los organismos en el medio ambiente (Paula et al., 2011; Sri.S et al., 2012; Vemmer; Patel, 2013). Así, especialmente en relación a las condiciones climáticas de Brasil, la persistencia de esos organismos es de apenas tres días y ese factor termina por reducir la eficiencia en campo, siendo necesario el desarrollo de tecnologías que puedan aumentar su persistencia. Otros problemas que se enfrentan son algunos resultados insatisfactorios, por lo que muchas veces se requiere realizar varias aplicaciones, o incluso la complementación con plaguicidas no biológicos, y la mayoría de las veces esta necesidad se hace por problemas en la tecnología de aplicación empleada y no debido a la ineficiencia del producto. Además de la búsqueda de nuevos productos y nuevas formas de combatir las plagas agrícolas, la adecuación de la tecnología de aplicación es un paso crucial en el manejo de plagas de difícil control (Costa et al., 2014; Costa et al., 2015), lo cual debe ser más estudiado cuando se trata del uso de microorganismos.

Por lo tanto, se deben considerar diferentes caminos en relación con el desarrollo de tecnologías que permitan aumentar la protección, viabilidad y eficiencia de los microorganismos. En cuanto al uso de *Trichoderma* spp., existe la necesidad de protegerlo de las condiciones adversas del ambiente, garantizar su manipulación y permanencia en el campo, así como utilizar tecnologías que permitan aumentar su eficiencia, vida útil y garantía de su aplicabilidad. La propuesta de este capítulo es el uso de micro y nanotecnología como una estrategia para la aplicación de *Trichoderma* spp. en la agricultura, proponiéndose procesos de microencapsulación (Vemmer; Patel, 2013; Rathore et al., 2013; Ma et al., 2015) y la síntesis de nanopartículas metálicas a partir de estos microorganismos, es decir, de forma biogénica (Ahluwalia et al., 2014; Guilger et al., 2017).

### **Uso de la tecnología de microencapsulación para el aumento de la persistencia de microorganismos**

La microencapsulación consiste en crear una barrera física que protege los ingredientes activos de factores externos (Paulo; Santos, 2017), como la protección contra la radiación

ultravioleta, la oxidación y las altas temperaturas (Sri.S et al., 2012). Las técnicas de microencapsulación pueden utilizarse en varias áreas, entre ellas farmacéutica (Agnihotri et al., 2012), alimentaria (Chávarri et al., 2010) y agrícola (Jin; Custis, 2011a). En el caso de la agricultura, existen reportes de microencapsulación de agentes de control biológico como *Beauveria brongniartii* (Horaczek; Viernstein, 2004a), *B. bassiana* (Liu; Liu, 2009b), *Metarhizium anisopliae* (Horaczek; Viernstein, 2004b, Liu; Liu, 2009a), *T. harzianum* (Muñoz-Celaya et al., 2012, Jin; Custis, 2011a, Adzmi et al., 2012, Locatelli et al., 2018).

En cuanto a su funcionamiento, la matriz de micropartículas es capaz de brindar protección al ingrediente activo de las condiciones adversas del ambiente externo y del estrés mecánico y puede proporcionar un microambiente seguro y definido (McLoughlin, 1994). Como resultado, el microorganismo puede sobrevivir durante largos periodos manteniendo su actividad metabólica (Cassidy et al., 1996; Rathore et al., 2013; Oancea et al., 2016). Los métodos de microencapsulación se clasifican en tres grupos (Tyagi et al., 2011): físicos (secado por aspersión), químicos (polimerización) y fisicoquímicos (coacervación y gelificación iónica).

**Tabla 1.** Principales métodos de encapsulación de micropartículas

Métodos de encapsulación	Descripción	Ventajas	Desventajas
Secado por aspersión	Proceso de conversión de una solución en un polvo seco en un solo paso pasando un spray atomizado a través de un medio gaseoso a alta temperatura.	Formación de partículas y secado en el mismo paso	Variación en la distribución de tamaños; las altas temperaturas normalmente no permiten la encapsulación de organismos sensibles
Polimerización	Proceso donde la emulsión de organismos en un monómero hidrofílico en una fase orgánica se agrega a un monómero hidrofóbico	Permite la encapsulación de partículas inorgánicas directamente en las gotas de monómero	Toxicidad del monómero
Coacervación	Separación de fases de polímeros incompatibles con la solución según valor de pH, temperatura; el polímero incompatible se deposita, formando microsferas	Bajo costo	Ocurre solo dentro de los límites de los valores de pH
Gelificación iónica	Una solución polimérica se deja caer en una solución iónica.	Protege el activo de la degradación, aumenta la estabilidad	La capacidad de producción está limitada por la tasa de formación de gotas

El método de microencapsulación por secado por aspersión es una técnica relacionada con la atomización de un líquido en un polvo a través de un inyector junto con una corriente de gas caliente (Rattes; Oliveira, 2007). Este método comprende tres etapas: (i) homogeneización del líquido por un atomizador, (ii) secado de la solución usando gas caliente para la evaporación del solvente y (iii) recolección de las micropartículas secas (Schafroth et

al., 2012). Diferentes condiciones en el método de secado por aspersión pueden influir en la formación de micropartículas, como el flujo de alimentación del principio activo, el flujo de aire, la temperatura de entrada y salida (O'riordan et al., 2001; Vega; Roos, 2006).

La coacervación es una técnica que puede definirse como un fenómeno coloidal que implica la separación de fases de una mezcla de dos polímeros con cargas opuestas en una solución acuosa desencadenada por diversas interacciones (Xiao et al., 2014). La interacción entre polímeros puede depender de varios factores, como el tipo de polímero, el pH, la fuerza iónica y la concentración (Turgeon et al., 2007).

La gelificación iónica se puede realizar mediante procesos de extrusión, deposición electrostática y atomización (Maestrelli et al., 2008). El método de extrusión termina siendo el más común, en el que una solución polimérica es aplicada en gotas en una solución iónica bajo agitación constante y luego el material activo a encapsular es agregado a la solución polimérica (Paques et al., 2014). Cuando las gotas alcanzan la solución iónica, la formación de micropartículas esféricas es instantánea (Patil et al., 2010; Souza et al., 2012; Leong et al., 2016). Consiste en un procedimiento sencillo, fácil que no requiere equipo especializado, además, no requiere el uso de solventes orgánicos ni altas temperaturas (Patil et al., 2010; Comunian; Favaro-Trindade, 2016).

La formación de micropartículas a través de la polimerización se caracteriza por la interacción entre monómeros hidrofílicos y lipofílicos en una emulsión de aceite y agua que reaccionan para formar una membrana polimérica (Yeo et al., 2001).

Existen varios trabajos en la literatura relacionados con la síntesis de micropartículas, principalmente a través de los métodos antes mencionados, los cuales se muestran en la Tabla 2.

A modo de ejemplo, Muñoz-Celaya et al. (2012) encapsularon conidios del hongo *T. harzianum* en matrices poliméricas de carbohidratos. Esta estrategia fue una alternativa válida para aumentar la vida útil de las formulaciones producidas. En este estudio se utilizó maltodextrina y goma arábiga para la síntesis de micropartículas, por el método de secado por aspersión, lo que proporcionó una estabilidad de hasta ocho semanas para el microorganismo.

En otro estudio, Jin; Custis (2011a) utilizó el método de secado por aspersión para la encapsulación de *T. harzianum*, lo que evitó la contaminación microbiana, indujo la latencia y permitió una mayor estabilidad durante el almacenamiento. Además, Locatelli et al. (2018) desarrollaron micropartículas de alginato que contenían *Trichoderma* spp. mediante el método de gelificación iónica. La encapsulación promovió la viabilidad de los conidios durante 14 meses almacenadas a 28 °C.

Vicenkovic et al. (2016) encapsularon *T. viride* en micropartículas de alginato/quitosano junto con activos químicos (cobre). Este estudio mostró que la encapsulación de activos químicos y biológicos era posible, sin que el activo químico inviabilizara al activo biológico.

Recientemente, Mancera-López et al. (2018) desarrollaron un método para la preservación de conidios de *T. harzianum* en cápsulas de alginato, con tres tamaños diferentes

(micro, mediano y grande). Se probó la resistencia de *T. harzianum* encapsulado a la radiación ultravioleta y el efecto antagónico contra cuatro hongos fitopatógenos (*Penicillium citrinum*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger* y *Rhizoctonia solani*). Los resultados mostraron cápsulas de tamaño mediano ( $1,5 \pm 0,3$  mm) y grande ( $2,7 \pm 0,3$  mm) por el método de goteo y, por el método de gelificación, cápsulas con un tamaño de  $8,6 \pm 0,3$  mm,  $3 \mu\text{m}$ . Las micropartículas de tamaño mediano favorecieron una mayor producción de conidios y, a mayor densidad de conidios, mayor protección frente a la radiación ultravioleta. En cuanto a la conservación de conidios, se observó una pérdida de 30% a los dos años.

**Tabla 2.** Principales sistemas de microencapsulación de *Trichoderma* spp.

Polímero	Organismo	Método de preparación	Principales características	Referencia
Alginato	<i>Trichoderma inhamatum</i>	Gelificación iónica	Tamaño: no informado Actividad: la adición de fuente de alimento proporcionó una mayor inhibición del patógeno	Mafia et al., 2003
Alginato/ Quitosano con cobre	<i>Trichoderma viride</i>	Gelificación iónica	Tamaño: 0,45 mm y 2 mm Viabilidad: encapsulación de activos químicos (cobre) y biológicos juntos; la adición de cobre no inhibió la viabilidad de <i>T. viride</i>	Vincenkovic et al., 2016
Alginato	<i>Trichoderma harzianum</i>	Gelificación iónica	Tamaño: 10 $\mu\text{m}$ Viabilidad: el almacenamiento a 5 °C demostró una mejora significativa en la viabilidad en comparación con el almacenamiento a 30 °C	Adzmi et al., 2012
Alginato	<i>Trichoderma</i> sp.	Gelificación iónica	Tamaño: no informado Factibilidad: la encapsulación promovió el mantenimiento de los conidios durante 14 meses a 28 °C	Locatelli et al., 2018
Alginato	<i>Trichoderma harzianum</i>	Gelificación iónica	Tamaño: $1,5 \pm 0,3$ mm Viabilidad: la encapsulación promovió la viabilidad de 2 años, la resistencia a la radiación ultravioleta y el efecto antagónico contra los hongos fitopatógenos.	Mancera-López et al., 2018
Maltodextrina DE10 y DE20, goma arábiga (GA)	<i>Trichoderma</i>	Secado por aspersión	Tamaño: no informado Viabilidad: tasa de supervivencia del 86% y del 40%, después de 8 semanas de almacenamiento a 4 °C, obtenida con el polímero MD10-GA.	Muñoz-Celaya et al., 2012
Sucrosa, glicerol y melaza	<i>harzianum</i>	Secado por aspersión	Tamaño: 10 a 25 $\mu\text{m}$ Viabilidad: el uso de azúcar aumentó el porcentaje de supervivencia después del secado	Jin; Custis, 2011a
Maltodextrina DE20	<i>Trichoderma asperellum</i>	Secado por aspersión	Tamaño: no informado Viabilidad: los conidios encapsulados mostraron 70% de viabilidad en el sistema evaluado	Braga et al., 2017
Azúcares	<i>Trichoderma</i> sp.	Secado por aspersión	Tamaño: 8 a 30 $\mu\text{m}$ Viabilidad: una menor concentración de sacarosa aseguró una mayor viabilidad de los conidios	Jin; Custis, 2011b

En este contexto, como ejemplo, la figura 1 muestra una imagen de micropartículas de alginato de calcio que contienen al hongo *Trichoderma harzianum* encapsulado. Las micropartículas fueron preparadas por el método de gelificación iónica, donde presentaron un tamaño promedio de 900  $\mu\text{m}$  y morfología esférica.

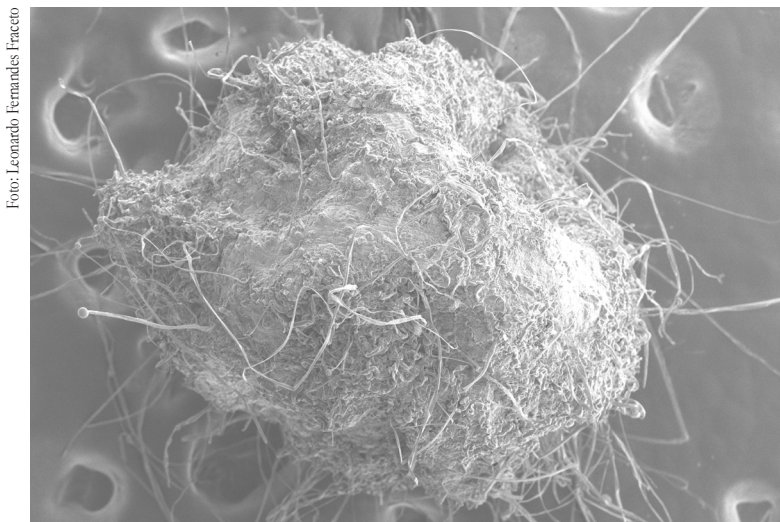


Foto: Leonardo Fernandes Fraceto

**Figura 1.** Microscopía electrónica de barrido de micropartículas de alginato de calcio que contienen al hongo *T. harzianum* encapsulado a una concentración de 3%. La imagen de micropartículas muestra que el crecimiento del hongo no fue afectado por el proceso de microencapsulación, donde se destaca el crecimiento de hifas y conidios. La imagen fue tomada con un aumento de 85x.

Además, en la literatura se reportan patentes sobre microencapsulación de hongos. Los autores de la patente US 20110306116A1 desarrollaron un método de encapsulación de micropartículas a partir de los conidios de *Trichoderma* spp. en una matriz de monosacáridos mediante secado por aspersión. En este método se probaron varios tipos y concentraciones de azúcares y temperaturas de entrada y salida del secado por aspersión. Los resultados mostraron que 2% de sacarosa fue la mejor concentración para una mayor tasa de supervivencia. Además, la temperatura ideal de entrada y salida del secado por atomización es de 60 y 30 °C, respectivamente. Las micropartículas tenían un tamaño de 8 a 30  $\mu\text{m}$  (Jin; Custis, 2011b).

En otra patente, BR 1020120267918A2, los autores trataron el proceso de microencapsulación de *T. asperellum* en una matriz polimérica (alginato de sodio). La formulación granular final se aplicó para el biocontrol de enfermedades de plantas causadas por hongos patógenos del suelo (Castilho, 2014).

En términos comerciales, ya es posible encontrar productos basados en la encapsulación de hongos. Como ejemplo, la empresa Codagu Agritech es la encargada de fabricar el producto *Trichocap*, que es una formulación encapsulada de *T. harzianum* MTCC 5179 (Codagu Agritech, 2017). De acuerdo con la descripción del producto, esta formulación es capaz de promover el crecimiento, desencadenar la defensa y acción directa contra el patógeno, ayudando a mejorar el rendimiento de los cultivos.

### **Nanopartículas biogénicas sintetizadas a partir de hongos**

Las nanopartículas metálicas, debido a su reducido tamaño y mayor área superficial, poseen propiedades químicas, físicas y biológicas diferentes a su material original a escala convencional, lo que les puede confiere potencial para el control de microorganismos (Mody et al., 2010).

La síntesis de nanopartículas metálicas se puede realizar utilizando diferentes métodos como el químico, el físico y el biogénico. La síntesis biogénica destaca por la posibilidad de utilizar organismos vivos, sus metabolitos o extractos de estos organismos, que actúan como agentes reductores y estabilizantes. La síntesis biogénica se considera un método simple, económico y con menor impacto en el medio ambiente (Mohanpuria et al., 2008).

En la mayoría de las síntesis biogénicas, la reducción de las sales precursoras es realizada por moléculas orgánicas provenientes del agente reductor, como proteínas, aminoácidos, azúcares y enzimas, proceso que ocurre de forma natural en el ambiente, pues como una forma de protección los microorganismos, al ser expuestos a elementos no deseados, secretan metabolitos y otros compuestos que convierten los iones metálicos en un metal en su forma elemental (Lloyd, 2003; Siddiqi; Husen, 2016).

La principal ventaja de las nanopartículas biogénicas es que presentan un centro metálico rodeado por una capa denominada recubrimiento, que presenta características propias del organismo utilizado para la síntesis. La presencia del recubrimiento combinado con el metal utilizado en la síntesis provoca una sinergia entre ellos, lo que confiere a las nanopartículas características únicas y posibilita diferentes combinaciones, que pueden ser utilizadas para apuntar a la actividad deseada. Además, el recubrimiento formado en este tipo de síntesis permite controlar el tamaño y la forma de las nanopartículas, lo que puede influir en su actividad y toxicidad.

Se pueden utilizar diferentes organismos para la síntesis de nanopartículas metálicas biogénicas, aunque, los hongos tienen cualidades importantes para este fin debido a su rápido crecimiento, fácil manejo y producción de grandes cantidades de enzimas (Dhillon et al., 2012; Alghhuthaymi et al., 2015). Así, se encuentran patentes de nanopartículas metálicas biogénicas sintetizadas a partir de hongos, como la patente US 9567610B2, que muestra el



desarrollo de nanopartículas de oro a partir de un cultivo de *Botrytis cinerea*, cuya síntesis se realiza a partir de las esporas, micelios, esclerocios o moléculas producidas por el hongo (Retamal; Nara, 2017). La patente US 9701552B1 se refiere a la producción de nanopartículas de plata utilizando el hongo *Alternaria pluriseptata* para la descontaminación de agua (Ortashi et al., 2017). La patente US 20050214916A1 desarrolló un proceso para la síntesis biológica de nanopartículas de óxido utilizando hongos hidrolizantes, siendo propuestos los hongos *Fusarium* sp., *Trichotecium* sp., *Verticillium* sp., *Chloridium* sp., *Aspergillus* sp., *Cephalophora* sp., *Fusarium oxysporum* y *Helicostylum* sp. y los metales titanio, zirconio, silicio y zinc (Absar et al., 2005).

En cuanto a las nanopartículas sintetizadas a partir de *Trichoderma* spp. fueron desarrolladas patentes como la US 2014/0363871A1, que utiliza *T. koningiopsis* e *Hypocrea lixii* en la producción de nanopartículas de cobre para la biorremediación de aguas residuales (Correa et al., 2014) y la US 20100055199A1, que utiliza *T. reesei* en la síntesis de nanopartículas de plata con un diámetro entre 5 y 50 nm (Mansoori, 2010). En otra patente, CN 105039419B, se prepararon nanopartículas de plata a partir de *T. aculeatus* (Zhao; Zhang, 2017). También en la patente CN 104673684 los autores desarrollaron la síntesis de nanopartículas de oro a partir de un nuevo cultivo de *Trichoderma* sp. obtenido a través de una muestra de lodo activado, en cuyo caso se observaron partículas con diferentes formas como esféricas, poligonales, de triángulo equilátero y similares (Qu, 2015).

En este escenario, el uso de *Trichoderma* spp. para el control biológico se considera posible debido a que estos hongos no presentan patogenicidad y tienen potencial como agentes reductores y estabilizadores en la síntesis biogénica de nanopartículas. Ante esto, en los últimos años se empezó a considerar la investigación en relación a la síntesis de nanopartículas utilizando estos microorganismos. Entre las nanopartículas biogénicas sintetizadas a partir de *Trichoderma* spp. son nanopartículas de plata, titanio, selenio, oro y cobre (Tabla 3), destacando la plata principalmente por su conocido potencial bactericida.

**Tabla 3.** Principales nanopartículas biogénicas sintetizadas a partir del hongo *Trichoderma* spp. en los últimos años.

Organismo	Metal	Tamaño (nm)	Evaluación de la toxicidad	Observaciones	Referencia
<i>T. asperellum</i>	Cobre	10 – 190	Tóxica para célula cancerígena pulmonar a 24,7 µg mL <sup>-1</sup> (A549)	-	Saravanakumar et al. (2019)
<i>T. koningii</i>	Oro	10 – 14	Tóxica para células LoVo a 33,04 µg mL <sup>-1</sup> y LoVo/DX a 28,88 µg mL <sup>-1</sup>	-	Maliszewska (2013)
<i>T. viride</i>	Oro	20 - 30	-	Actividad contra <i>Pseudomonas syringae</i> , <i>E. coli</i> y <i>Shigella sonnei</i>	Mishra et al. (2014)

Organismo	Metal	Tamaño (nm)	Evaluación de la toxicidad	Observaciones	Referencia
<i>Trichoderma</i> sp.	Oro	26 – 34	-	Cataliza la degradación de colorantes azo	Qu et al. (2017)
<i>T. harzianum</i>	Oro	32 – 44	-	Utilizado en la detección de iones Hg <sup>2+</sup>	Tripathi et al. (2014)
<i>T. harzianum</i>	Plata	21,1	-	Actividad contra <i>S. aureus</i> y <i>K. aeruginosa</i>	Ahluwalia et al. (2014)
<i>T. asperellum</i> , <i>T. harzianum</i> , <i>T. longibrachiatum</i> , <i>T. pseudokoningii</i> <i>T. virens</i>	Plata	8 – 60	-	La mayor producción de NP fue de <i>T. virens</i>	Devi et al. (2013)
<i>T. harzianum</i>	Plata	12,7±0,8	-	Actividad contra <i>A. alternata</i> , <i>Helminthosporium</i> sp, <i>Botrytis</i> sp y <i>P. arenaria</i>	El-Moslamy et al. (2017)
<i>T. viride</i>	Plata	5 – 40	-	Actividad contra <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> ; combinado con antibióticos mejoró su eficiencia contra <i>E. coli</i> , <i>E. aureus</i> , <i>S. typhi</i> y <i>M. luteus</i>	Fayaz et al. (2009), Fayaz et al., (2010)
<i>T. harzianum</i>	Plata	20 – 30	Efectos citotóxicos y genotóxicos a 0,15 a 3,16x10 <sup>12</sup> NPs. mL <sup>-1</sup>	El tamaño medio por DLS fue de 100,7 nm	Guilger et al. (2017)
<i>T. viride</i>	Plata	2 – 5	-	Inhibición de <i>Shigella sonnei</i> , <i>E. coli</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>S. aureus</i> y <i>P. aeruginosa</i>	Kumari et al. (2017)
<i>Trichoderma</i> sp.	Plata	100	No presentó citotoxicidad y genotoxicidad en macrófagos a 0,5 ppm	Potencial para combatir la infección por micobacterias	Mohanty et al. (2013)
<i>T. asperellum</i>	Plata	13 – 18	-	-	Mukherjee et al. (2008)
<i>T. viride</i>	Plata	4 – 16	-	Actividad contra <i>Bacillus mycoides</i> , <i>E. coli</i> y <i>C. albicans</i>	Othman et al. (2017)
<i>T. atroviride</i>	Plata	15 – 25	Tóxica para células de cáncer de mama a 16,5 µg mL <sup>-1</sup>	Actividad contra <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> y <i>S. aureus</i> ; actividad antioxidante	Saravanakumar; Wang (2018)
<i>T. reesei</i>	Plata	5 – 50	-	-	Vahabi et al. (2011)
<i>T. asperellum</i> , <i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , <i>T. virens</i> , <i>T. longibrachiatum</i> <i>T. brevicompactum</i>	Selenio	49,5-312,5	Ningún efecto tóxico en la planta ( <i>Pennisetum glaucum</i> ) a 100 ppm	Inhibió a <i>Sclerotospira graminicola</i>	Nandini et al. (2017)
<i>T. viride</i>	Titanio	74,4	No resultó tóxica a <i>Eudrilus eugeniae</i> (lombriz de tierra) a 100 ppm	Actividad larvicida contra <i>Helicoverpa armigera</i> ; menor toxicidad en comparación con las nanopartículas comerciales	Kamaraj et al. (2018)

Como se informó anteriormente, una de las ventajas de la síntesis biogénica es que las nanopartículas tienen un recubrimiento estabilizador compuesto por proteínas y metabolitos, que pueden contribuir a la actividad biológica, potenciando su acción. Este recubrimiento garantiza a las nanopartículas una mayor estabilidad y control de tamaño, evitando la aglomeración y agregación (Ballotin et al., 2016; Khan; Ahmad, 2014). Teniendo en cuenta esta propiedad, los hongos se consideran una alternativa interesante debido a la producción de grandes cantidades de biomoléculas.

El género *Trichoderma* es bien conocido por la secreción de enzimas hidrolíticas, como quitinasas,  $\beta$ -1,3-glucanasas y proteasas y metabolitos secundarios, que actúan en el control biológico de otras especies de hongos fitopatógenos (Geraldine et al., 2013; Qualhato et al., 2013). Esta característica es un factor clave para que estos hongos sean utilizados en la síntesis biogénica de nanopartículas metálicas, teniendo como principal actividad su aplicación en el área agrícola.

Varios estudios utilizaron especies de *Trichoderma* para la síntesis de nanopartículas metálicas y encontraron la formación de una capa de compuestos del hongo en la superficie de las mismas. Ahluwalia et al. (2014) sintetizaron nanopartículas de plata utilizando *T. harzianum* y observaron una fina capa de materia orgánica que rodeaba las nanopartículas y evitaba su agregación. También se observaron señales de espectro que indican la presencia de carbono, oxígeno y cloruro, lo que confirma la adsorción de compuestos del hongo en la superficie de las nanopartículas. Según los autores, la unión de las proteínas a las nanopartículas se produce a través de residuos de la cisteína de proteínas o grupos amino libres. Elgorban et al. (2016) también verificaron la formación de un recubrimiento alrededor de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de *T. viride* y observaron señales de carbono y oxígeno atribuidas a las proteínas del hongo. Saravanakumar et al. (2019) sintetizaron nanopartículas de óxido de cobre a partir del extracto de *T. asperellum* y observaron la presencia de varias moléculas funcionales involucradas en la síntesis y grupos amida y metabolitos aromáticos secundarios responsables de la formación del recubrimiento.

Debido a la presencia de este recubrimiento de compuestos orgánicos, las nanopartículas metálicas biogénicas terminan mostrando una mayor biocompatibilidad con los sistemas biológicos en comparación con las nanopartículas sintetizadas por métodos químicos y físicos, lo que puede contribuir con su actividad. Kumari et al. (2017) compararon la actividad bactericida de nanopartículas de plata sintetizadas biogénicamente a partir de *T. viride* y recubiertas con los metabolitos secundarios de este hongo, y nanopartículas sintetizadas químicamente y estabilizadas con citrato. Los autores observaron una mayor internalización de las nanopartículas recubiertas de los metabolitos antimicrobianos de *T. viride* en las células bacterianas, provocando un mayor estrés oxidativo y, en consecuencia, la muerte

de la bacteria. Maliszewska (2013) sintetizó nanopartículas de oro a partir de *T. koningii* y encontró la permanencia de proteínas del hongo en su superficie, lo que le confirió una alta estabilidad. El potencial citotóxico de estas nanopartículas se evaluó en las líneas celulares de adenocarcinoma de colon humano LoVo y LoVo/DX, y se verificó la internalización de las nanopartículas en las células por endocitosis y la alta citotoxicidad, que se atribuyó a las proteínas de recubrimiento.

A pesar de la viabilidad de *Trichoderma* spp. para la síntesis biogénica de nanopartículas y su potencial para diversas aplicaciones, es importante considerar la necesidad de marcos regulatorios para el uso de estos nuevos nanomateriales. La nanotecnología, especialmente cuando está enfocada al área agrícola, es aún una ciencia muy reciente, que requiere estudios para conocer sus posibles efectos sobre el medio ambiente. Las diversas propiedades de las nanopartículas, como el tamaño, la carga superficial, el revestimiento y la estructura cristalina, así como los parámetros del entorno en el que pueden liberarse, como la temperatura, el pH, la fuerza iónica y la cantidad de materia orgánica, son parámetros que pueden influir significativamente en su toxicidad (Walters et al., 2016).

Debido al interés en el uso de nanopartículas y su creciente inserción en el mercado en los últimos años, es necesario evaluar mecanismos de toxicidad como estrés oxidativo, citotoxicidad y genotoxicidad. Aunque hay avances en el estudio de la nanotecnología en el campo médico, el impacto de los nanomateriales para el uso agrícola y sus impactos en el medio ambiente y la salud aún necesitan más estudios, sin embargo, el levantamiento y seguimiento de los impactos ambientales causados por los nanomateriales no es una tarea de fácil ejecución, siendo necesario el desarrollo de técnicas que permitan que estas se lleven a cabo con precisión.

De esta forma, con el fin de explorar el potencial de las nanopartículas biogénicas sumado al potencial de *Trichoderma* spp. como agente de control biológico con mayor seguridad en cuanto a posibles riesgos para la salud y el medio ambiente, es de gran importancia continuar los estudios sobre este tema, direccionando al futuro y para la definición de nueva legislación.

### **Consideraciones finales**

Los beneficios de *Trichoderma* spp. en cuanto a las aplicaciones agrícolas se conocen y estudian desde hace algún tiempo, pero aún quedan algunas cuestiones por resolver en relación con la practicidad de uso, e incluso en relación con la garantía de su efectividad. De esta manera, se evalúan e investigan diferentes especies con el fin de optimizar su actividad y garantizar su permanencia en el suelo, se realizan análisis genéticos para obtener más información sobre la producción de proteínas de interés, así como se realizan estudios de sus

metabolitos secundarios para que exista una mayor comprensión sobre su actividad.

Ante este interés en relación al uso de este microorganismo con el objetivo de mejorar la producción agrícola, la nanotecnología vuelve sus ojos para contribuir a este tema, tratando de traer soluciones a problemas que no han sido superados hasta ahora, además de proponer una renovación en los pensamientos sobre los beneficios de *Trichoderma* spp.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a FAPESP (#2017/21004-5; #2017/13328-5; #2017/20932-6; #2016/13692-6; #2017/20932-6).

## Referencias

- ABSAR, A.; ASTRY, M.; RAUTARAY, D. **Biological process for synthesis of oxide Nanoparticles**. US Pat. 2005/0214916 A1, septiembre 29, 2005.
- ADZMI, F.; MEON, S.; MUSA, M. H.; YUSUF, N. A. Preparation, characterization and viability of encapsulated *Trichoderma harzianum* UPM40 in alginate-montmorillonite clay. **Journal of Microencapsulation**, v. 29, n. 3, p. 205-210, 2012.
- AGNIHOTRI, N.; MISHRA, R.; GODA, C.; ARORA, M. Microencapsulation—a novel approach in drug delivery: a review. **Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2012.
- AHLUWALIA, V.; KUMAR, J.; SISODIA, R.; SHAKIL, N. A.; WALIA, S. Green synthesis of silver nanoparticles by *Trichoderma harzianum* and their bio-efficacy evaluation against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*. **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 202-206, 2014.
- ALGHUTHAYMI, M. A.; ALMOAMMAR, H.; RAI, M.; SAID-GALIEV, E.; ABD-ELSALAM, A. Myconanoparticles: synthesis and their role in phytopathogens management. **Biotechnology, Biotechnological Equipment**, v. 29, n. 2, p. 221-236, 2015.
- BALLOTIN, D.; FULAZ, S.; SOUZA, M. L.; CORIO, P.; RODRIGUES, A. G.; SOUZA, A. O.; GASPARI, P. M.; GOMES, A. F.; GOZZO, F.; TASIC, L. Elucidating Protein Involvement in the Stabilization of the Biogenic Silver Nanoparticles. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 313, p. 1-9, 2016.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, set. 2004.
- BOMFIM, M. P.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; ALMEIDA, S. S.; SOUZA, I. V. B. S.; DIAS, N. O. Avaliação antagonista *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010.
- BRAGA, A. B. A. C.; COSTA, C. J. M.; MELO, M. R.; ZOTARELLO, M. F.; SANTOS, L. D.; IBEIRO, E. J. Spray drying microencapsulation of *Trichoderma asperellum*. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 21, 2017, Aracaju. **Anais eletrônicos...** São Paulo: ABEQ, [2017]. Disponible en: <<https://proceedings.science/sinaferm/sinaferm-2017/papers/spray-drying-microencapsulation-of-trichoderma-sperellum?lang=pt-br>>. Acceso en jul. 2019.
- CASSIDY, M. B.; LEE, H.; TREVORS, J. T. J. Environmental applications of immobilized microbial cells: A review. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 79-101, 1996.
- CASTILHO, K. S. C. **Processo de microencapsulação de *Trichoderma asperellum* em matriz polimérica**. BR Pat. 10 2012 0267918 A2, 26 junio, 2014.
- CHÁVARRI, M.; MARAÑÓN, I.; ARES, R.; IBÁÑEZ, F. C.; MARZO, F.; VILARÁN, M. C. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, n. 1-2, p. 185-189, 2010.
- CODAGU AGRITECH. **Trichocap**: encapsulated formulation of *Trichoderma harzianum* MTCC 5179, 2017. Disponible en: <<http://codaguagritech.com/trichocap-2/>>. Acceso en: enero 2019.

- COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytoosterols and omega-3 fatty acids: **A review. Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 442-457, 2016.
- CORREA, B.; NASCIMENTO, C. A. O.; SALVADORI, M. R. **Process for obtaining copper nanoparticles from a fungus selected between *Hypocrea lixii* and *Trichoderma koningiopsis* and use of fungi selected between *Hypocrea lixii* and *Trichoderma koningiopsis* in bioremediation of wastewater and production of copper nanoparticles.** US Pat. 2014/0363871 A1, diciembre 11, 2014.
- COSTA, J. T.; FORIM, M. R.; COSTA, E. V.; SOUZA, J. R.; MONDEGO, J. M.; BOIÁ-JUNIOR, A. L. Effects of different formulations of neem oil-based products on control *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans. **Journal of Stored Products Research**, v. 56, p. 49-53, 2014.
- COSTA, L. L.; FERREIRA, M. C.; CAMPOS, H. B. N.; CARVALHO, G. F. G.; BARBOSA, J. C. The mixture volume sprayed by hydraulic and centrifugal energy nozzles for the control of Asian soybean rust. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 37, n. 4, p. 425-433, 2015.
- CÚNDOM, M. A.; MAZZA, S. M. GUTIÉRREZ, S. A. Short communication. Selection of *Trichoderma* spp. isolates against *Rhizoctonia solani*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 1, n. 4, p. 79-52, 2003.
- DEVI, T. P.; KULANTHAIVAL, S.; KAMIL, D.; BORAH, J. L.; PRABHAKARAN, N.; SRINIVASA, N. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Trichoderma* species. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 51, p. 543-547, 2013.
- DHILLON, G. S.; BRAR, S. K.; KAUR, S.; VERMA, M. Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications. **Critical Reviews Biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 49-73, 2012.
- ELGORBAN, A. M.; AL-RAHMAH, A. N.; SAYED, S. R. Antimicrobial activity and green synthesis of silver nanoparticles using *Trichoderma viride*. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 30, n. 2, p. 299-304, 2016.
- EL-MOSLAMY, S. H.; ELKADY, M. F.; REZK, A. H.; ABDEL-FATTAH, Y. R. Applying Taguchi design and large-scale strategy for mycosynthesis of nanosilver from endophytic *Trichoderma harzianum* SYA.F4 and its application against phytopathogens. **Scientific Reports**, v. 7, n. 45297, 2017.
- EZZIYYANI, M.; REQUENA, M. E.; EGEEA-GILBERT, C.; CANDELA, M. E. Biological Control of Phytophthora Root Rot of Pepper Using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in Combination. **Journal of Phytopathology**, v. 155, n. 6, p. 342-349, 2007.
- FABRY, C. F. S.; LUSTOSA, D. C.; OLIVEIRA, J. C. **Trichoderma: alternativa para o controle biológico de doenças de plantas.** Barreiras - BA: Gráfica Irmãos Ribeiro, 2006. Cartilha Técnica. Disponible en: <<http://www.jcofertilizantes.com.br/folders/0009.pdf>>. Acceso en: enero de 2019.
- FAYAZ, A. M.; BALAJI, K.; GIRILAL, M.; KALAICHELVAN, P. T.; VENKATESAN, R. Mycobased synthesis of silver nanoparticles and their incorporation into sodium alginate films for vegetable and fruit preservation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 14, p. 6246-6252, 2009.
- FAYAZ, A. M.; BALAJI, K.; GIRILAL, M.; YADAV, R.; KALAICHELVAN, P. T.; VENKATESAN, R. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. **Nanomedicine**, v. 6, p. 103-109, 2010.
- GERALDINE, A. M.; LOPES, F. A. C.; CARVALHO, D. D. C.; BARBOSA, E. T.; RODRIGUES, A. R.; BRANDÃO, R. S.; ULHOA, C. J.; LOBO JUNIOR, M. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. **Biological Control**, v. 67, n. 3, p. 308-316, 2013.
- GUILGER, M.; PASQUOTO-STIGLIANI, T.; BILESKY-JOSÉ, N.; GRILLO, R.; ABHILASH, P. C.; FRACETO, L. F.; LIMA, R. Biogenic silver nanoparticles based on *Trichoderma harzianum*: synthesis, characterization, toxicity evaluation and biological activity. **Scientific Reports**, v. 7, n. 44421, 2017.
- GVEROSKA, B.; ZIBEROSKI, J. *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent against *Alternaria alternata* on tobacco. **Applied Technologies Innovations**, v. 7, n. 2, p. 67-76, 2012.
- HJELJORD, L. G.; STENSVAND, A.; TRONSMO, A. Antagonism of nutrient-activated conidia of *Trichoderma harzianum* (atroviride) P1 against *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, v. 91, n. 12, p. 1172-1180, 2001.
- HORACZEK, A.; VIERNSTEIN, H. *Beauveria brongniartii* subjected to spray-drying in a composite carrier matrix system. **Journal of Microencapsulation**, v. 21, n. 3, p. 317-330, 2004a.
- HORACZEK, A.; VIERNSTEIN, H. Comparison of three commonly used drying technologies with respect to activity and longevity of aerial conidia of *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*. **Biological Control**, v. 31, n. 1, p. 65-71, 2004b.

- JIN, X.; CUSTIS, D. Microencapsulating aerial conidia of *Trichoderma harzianum* throughspray drying at elevated temperatures. **Biological Control**, v. 56, n. 2, p. 202-208, 2011a.
- JIN, X.; CUSTIS, D. **Method for encapsulation of microparticles**. US Pat. 2011/0306116, diciembre 15, 2011b.
- KAMARAJ, C.; BALASUBRAMANI, G.; DEEPAK, P.; AISWARYA, D.; ARUL, D.; AMUTHA, V.; KARTHI, S.; PERUMAL, P. Biopesticidal effects of *Trichoderma viride* formulated titanium dioxide nanoparticle and their physiological and biochemical changes on *Helicoverpa armigera* (Hub). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 149, p. 26-36, 2018.
- KHAN, S. A.; AHMAD, A. Enzyme mediated synthesis of water-dispersible nanoparticles, naturally protein capped, monodispersed gold nanoparticles; their characterization and mechanistic aspect. **RSC Advances**, v. 4, n. 15, p. 7729-7734, 2014.
- KUMARI, M.; SHUKLA, S.; PANDEY, S.; GIRI, V. P.; BHATIA, A.; TRPATHI, T.; KAKKAR, P.; NAUTIYAL, C. S.; MISHRA, A. Enhanced cellular internalization: a bactericidal mechanism more relative to biogenic nanoparticles than chemical counterparts. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 9, n. 5, p. 4519-4533, 2017.
- LEONG, J. Y.; LAM, W. H.; HO, K. W.; VOO, W. P.; LEE, M. F. X.; LIM, H. P.; LIM, S. L.; TEY, B. T.; PONCELET, D.; CHAN, E. S. Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems. **Particuology**, v. 24, p. 44-60, 2016.
- LIMA, J. O. G.; GRAVINA, G. A. Failure of imidacloprid and thiacloprid to control the guava-psyllid, *Trioza lmbata* (Enderlein) (Hemiptera: Psyllidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1888-1891, 2009. Edição especial.
- LISBOA, B. B.; BOCHESSE, C. C.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, J. R. P.; RADIN, B.; OLIVEIRA, A. M. R. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viridexa* redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1255-1260, 2007.
- LIU, C. P.; LIU, S. D. Formulation and characterization of the microencapsulated entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* MA126. **Journal of Microencapsulation**, v. 26, n. 5, p. 377-384, 2009a.
- LIU, C. P.; LIU, S. D. Low-temperature spray drying for the microencapsulation of the fungus *Beauveria bassiana*. **Drying Technology**, v. 27, n. 6, p. 747-753, 2009b.
- LLOYD, J. R. Microbial reduction of metals and radionuclides. Federation of European **Microbiological Societies Microbial Reviews**, v. 27, n. 2-3, p. 411-425, 2003.
- LOCATELLI, G. O.; SANTOS, G. F.; BOTELHO, P. S.; FINKLER, C. L. L.; BUENO, L. A. Development of *Trichoderma* sp. formulations in encapsulated granules (CG) and evaluation of conidia shelf life. **Biological Control**, v. 117, p. 21-29, 2018.
- LUCON, C. M. M.; AKAMATSU, M. A.; HARAKAWA, R. Promoção de crescimento e controle de tombamento de plântulas de pepino por rizobactérias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 6, p. 691-697, 2008.
- MA, X.; WANG, X.; CHENG, J.; NIE, X.; YU, X.; ZHAO, Y.; WANG, W. Microencapsulation of *Bacillus subtilis* B99-2 and its biocontrol efficiency against *Rhizoctonia solani* in tomato. **Biological Control**, v. 90, p. 34-41, 2015.
- MACHADO, D. F. M.; SILVA, A. C. F. *Trichoderma* no controle in vitro de fungos presentes em diásporos de *Gochmatia polymorpha*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 182-191, 2013.
- MAESTRELLI, F.; ZERROUK, N.; CIRRI, M.; MENNINI, N.; MURA, P. Microspheres for colonic delivery of ketoprofen-hydroxypropyl-cyclodextrin complex. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 34, n. 1, p. 1-11, 2008.
- MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; VENTURA, G. M.; SANFUENTES, E. A. Encapsulamento de *Trichoderma inhamatum* para o controle biológico de *Rhizoctonia solani* na propagação clonal de *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 101-105, 2003.
- MALISZEWSKA, I. Microbial mediated synthesis of gold nanoparticles: preparation, characterization and cytotoxicity studies. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 8, n. 3, p. 1123-1131, 2013.
- MANCERA-LÓPEZ, M. E.; IZQUIERDO-ESTÉVEZ, W. F.; ESCALANTE-SANCHEZ, A.; IBARRA, J. E.; BARRERA-COTÉS, J. Encapsulation of *Trichoderma harzianum* conidia as a method of conidia preservation at room temperature and propagation in submerged culture. **Biocontrol Science and Technology**, v. 29, n. 2, p. 107-130, 2018.
- MANSOORI, G. A. **Synthesis of nanoparticles by fungi**. US Pat. 2010/0055199 A1, marzo 4, 2010.

- MASTOURI, F.; BJÖRKMANN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances Antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012.
- MCLOUGHLIN, A. J. Controlled release of immobilized cells as a strategy to regulate ecological competence of inocula. **Biotechnics/Wastewater**, v. 51, p. 1-45, 1994.
- MISHRA, A.; KUMAR, M.; PANDEY, S.; CHAUDHRY, V.; GUPTA, K. C.; NAUTIYAL, C. S. Biocatalytic and antimicrobial activities of gold nanoparticles synthesized by *Trichoderma* sp. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 235-242, 2014.
- MODY, V. V.; SIWALE, R.; SINGH, A.; MODY, H. R. Introduction to metallic nanoparticles. **Journal of Pharmacy BioAllied Sciences**, v. 2, n. 4, p. 282-289, 2010.
- MOHANPURIA, P.; RANA, K. N.; YADAV, S. K. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 10, n. 3, p. 507-517, 2008.
- MOHANTY, S.; JENA, P.; MEHTA, R.; PATI, R.; BANERJEE, B.; PATIL, S.; SONAWANE, A. Cationic antimicrobial peptides and biogenic silver nanoparticles kill mycobacteria without eliciting DNA damage and cytotoxicity in mouse macrophages. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 8, p. 3688-3698, 2013.
- MOURA, A. P.; CARVALHO, G. A.; MOSCARDINI, V. F.; MARQUES, M. C.; SOUZA, J. R. Toxicidade de pesticidas recomendados na produção integrada de maçã (PIM) a populações de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 3, p. 395-404, 2009.
- MUKHERJEE, P.; ROY, M.; MANDAL, B. P.; DEY, G. K.; MUKHERJEE, P. K.; GHATAK, J.; TYAGI, A. K.; KALE, S. P. Green synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver particles by a non-pathogenic and agriculturally important fungus *T. asperellum*. **Nanotechnology**, v. 19, p. 1-7, 2008.
- MUÑOZ-CELAYA, A. L.; ORTIZ-GARCIA, M.; VERNON-CARTER, E. J.; JAUREGUI-RINCON, J.; GALINDO, E.; SERRANO-CARRÉÓN, L. Spray-drying microencapsulation of *Trichoderma harzianum* conidia in carbohydrate polymers matrices. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 4, p. 1141-1148, 2012.
- NANDINI, B.; HARIPRASAD, P.; PRAKASH, H. S.; SHETTY, H. S.; GHEETA, N. Trichogenic-selenium nanoparticles enhance disease suppressive ability of *Trichoderma* against downy mildew disease caused by *Sclerospora graminicola* in pearl millet. **Scientific Reports**, v. 7, n. 2612, 2017.
- NASEBY, D. C.; PASCUAL, J. A.; LYNCH, J. M. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbial communities and soil enzyme activities. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 1, p. 161-169, 2000.
- OANCEA, F.; RAUT, I.; ESAN, T. E.; CORNEA, P. C. Dry flowable formulation of biostimulants *Trichoderma* strains. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 10, p. 494-502, 2016.
- O'RIORDAN, K.; ANDREWS, D.; BUCKLE, K.; CONWAY, P. Evaluation of microencapsulation of a Bifidobacterium strain with starch as an approach to prolonging viability during storage. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n.6, p. 1059-1066, 2001.
- ORTASHI, K. M. O.; AWAD, M. A. G.; HENDI, A. A.; ABDELAZIZ, A. R. M.; HENDI, A. S. A.; LAHMED, A. A. **Synthesis of silver nanoparticles using fungi**. Pat. 9,701,552 B1, julio 11, 2017. Disponible en: <<https://patentimages.storage.googleapis.com/43/07/52/8e2a-8977b1e259/US9701552.pdf>>. Acceso en: jun. 2019.
- OTHMAN, A. M.; ELSAYED, M. A.; ELSHAFEI, A. M.; HASSAN, M. M. Application of response surface methodology to optimize the extracellular fungal mediated nanosilver green synthesis. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 15, p. 497-504, 2017.
- PAQUES, J. P.; SAGIS, L. M.; VAN RIJN, C. J.; VAN DER LINDEN, E. Nanospheres of alginate prepared through w/o emulsification and internal gelation with nanoparticles of CaCO<sub>3</sub>. **Food Hydrocolloids**, v. 40, p. 182-188, 2014.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 345-355, 2014.
- PATIL, J. S.; KAMALAPUR, M. V.; MARAPUR, S. C.; KADAM, D. V. Iontropic gelation and polyelectrolyte complexation: the novel techniques to design hydrogel particulate sustained, modulated drug delivery system: a review. **Digest Journal of Nanomaterials Biostructures**, v. 5, n. 1, p. 241-248, 2010.
- PAULA, A. R.; CAROLINO, A. T.; PAULA, C. O.; SAMUELS, R. I. The combination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* with the insecticide Imidacloprid increases virulence against the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasites & Vectors**, v. 4, n. 8, p. 1-8, 2011.
- PAULO, F.; SANTOS, L. Design of experiments for microencapsulation applications: a review. **Materials Science and Engineering C**, v. 77, p. 1327-1340, 2017.



- PAZINI, W. C.; GALLI, J. C. Redução de aplicações de inseticidas através da adoção de táticas de manejo integrado do *Trioxzoida limbata* (Enderlein, 1918) (Hemiptera: Trioxzidae) em goiabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 66-72, 2011.
- QU, Y. *Trichoderma* sp. and application of *Trichoderma* sp. in synthesis of gold nanoparticles. CN Pat. 104673684 A, junho 3, 2015.
- QU, Y.; SHEN, W.; PEI, X.; MA, F.; YOU, S.; LI, S.; WANG, J.; ZHOU, J. Biosynthesis of gold nanoparticles by *Trichoderma* sp. WL-Go for azo dyes decolorization. **Journal of Environmental Sciences**, v. 56, p. 79-86, 2017.
- QUALHATO, T. F.; LOPES, F. A. C.; STEINDORF, A. S.; BRANDÃO, R. S.; JESUINO, R. S. A.; ULHOA, C. J. Mycoparasitism studies of *Trichoderma* species against three phytopathogenic fungi: evaluation of antagonism and hydrolytic enzyme production. **Biotechnology Letters**, v. 35, n. 9, p. 1461-1468, 2013.
- RATHORE, S.; DESAI, P. M.; LIEW, C. V.; CHAN, L. W.; HENG, P. W. S. Microencapsulation of microbial cells. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 369-381, 2013.
- RATTES, A. L. R.; OLIVEIRA, W. P. Spray drying conditions and encapsulating composition effects on formation and properties of sodium diclofenac microparticles. **Powder Technology**, v. 171, n. 1, p. 7-14, 2007.
- REINQ, J. L.; GUERRERO, R. F.; HERNANDEZ-GALAN, R.; COLLADO, I. G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 89-123, 2008.
- RETAMAL, M. C.; NARA, A. C. Use of *Botrytis cinerea* for obtaining gold nanoparticles. US Pat. 9,567,610 B2, febrero 14, 2017.
- SARAVANAKUMAR, K.; SHANMUGAM, S.; VARUKATTU, N. B.; MUBARAKALI, D.; KATHIRESAN, K.; WANG, M. H. Biosynthesis and characterization of cooper oxide nanoparticles from indigenous fungi and its effects of photothermolysis on human lung carcinoma. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 190, p. 103-109, 2019.
- SARAVANAKUMAR, K.; WANG, M. H. *Trichoderma* based synthesis of anti-pathogenic silver nanoparticles and their characterization, antioxidante and cytotoxicity properties. **Microbial Pathogenesis**, v. 114, p. 269-273, 2018.
- SCHAFROTH, N.; ARPAGAU, S.; JADHAV, U. Y.; MAKNE, S.; DOUROUMIS, D. Nano and microparticle engineering of water insoluble drugs using a novel spray-drying process. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 90, p. 8-15, 2012.
- SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and Biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 787-799, 2010.
- SHARMA, P.; PATEL, A. N.; SAINI, M. K.; DEEP, S. Field Demonstration of *Trichoderma harzianum* as a plant growth promoter in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 8, p. 6-73, 2012.
- SHARON, E.; BAR EYAL, M.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A.; KLEIFELD, O.; SPIEGEL, Y. Biological Control of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v. 91, n. 7, p. 687-693, 2001.
- SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005.
- SIDDIQI, K. S.; HUSEN, A. Fabrication of metal nanoparticles from fungi and metal salts: scope and application. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 98, p. 1-15, 2016.
- SONOGO, S.; POMELLIA, A.; HEBBAR, P. K.; BAILEY, B.; COSTA, J. C. B.; SAMUELS, G. J.; LUMSDEN, R. D. Production and germination of conidia by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of *Crimipellis perniciosa* on cacao. **Phytopathology**, v. 92, n. 10, p. 1052-1057, 2002.
- SOUZA, F. N.; GEBARA, C.; RIBEIRO, M. C. E.; CHAVES, K. S.; GIGANTE, M. L.; GROSSO, C. R. F. Production and characterization of microparticles containing pectin and whey proteins. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 560-566, 2012.
- SRLS, J.; SEETHADEVI, A.; SURIA PRABHA, K.; MUTHUPRASANNA, P.; PAVITRA, P. Microencapsulation: A Review. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 3, n. 1, p. 509-521, 2012.
- THRANE, C.; JENSEN, D. F.; TRONSMO, A. Substrate colonization, strain competition, enzyme production *in vitro*, and biocontrol of *Pythium ultimum* by *Trichoderma* spp. isolates P1 and T3. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, n. 3, p. 215-225, 2000.
- TRIPATHI, R. M.; GUPTA, R. K.; SINGH, P.; BHADWAL, A. S.; SHRIVASTAV, A.; KUMAR, N.; SHRIVASTAV, B. R. Ultra-sensitive detection of mercury (II) ions in water sample using gold nanoparticles synthesized by *Trichoderma harzianum* and their mechanistic approach. **Sensors and Actuators**, v. 204, p. 637-646, 2014.

- TURGEON, S.; SCHMIDT, C.; SANCHEZ, C. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current Opinion in Colloids and Interface Science**, v. 12, p. 196-205, 2007.
- TYAGI, V.; KAUSHIK, S.; TYAGI, S.; AKIYAMA, T. Development of phase change materials based microencapsulated technology for buildings: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 2, p. 1373-1391, 2011.
- VAHABI, K.; MANSOORI, G. A.; KARIMI, S. Biosynthesis of silver nanoparticles by fungus *Trichoderma reesei* (a route for large-scale production of AgNPs). **Insciences Journal**, v. 1, n. 1, p. 65-79, 2011.
- VEGA, C.; ROOS, Y. H. Invited review: spray-dried dairy and dairy-like emulsions-compositional considerations. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 2, p. 383-401, 2006.
- VEMMER, M.; PATEL, A. V. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. **Biological Control**, v. 67, n. 3, p. 380-389, 2013.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.
- VINCEKOVI, M.; JALŠENJAK, N.; TOPOLOVEC-PINTARI, S.; ERMI, E.; BUJAN, M.; JURI, S. Encapsulation of Biological and Chemical Agents for Plant Nutrition and Protection: Chitosan/Alginate Microcapsules Loaded with Copper Cations and *Trichoderma viride*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 43, p. 8073-8083, 2016.
- WALTERS, C.; POOL, E.; SOMERSET, V. Nanotoxicology: a review. In: LARRAMENDY, M.; SOLONESKI, S. (Ed.). **Toxicology: new aspects to this scientific conundrum**. [S. l.]: InTechOpen, 2016. p. 45-63
- WIJESINGHE, C. J.; WIJERATNAM, R. S.; SAMARASEKARA, J. K. R. R.; WIJESUNDERA, R. L. C. Development of a formulation of *Trichoderma asperellum* to control black rot disease on pineapple caused by (*Thielaviopsis paradoxa*). **Crop Protection**, v. 30, n. 3, p. 300-306, 2011.
- XIAO, Z.; LIU, W.; ZHU, G.; ZHOU, R.; NIU, Y. A review of the preparation and application of flavor and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 8, p. 1482-1494, 2014.
- YEO, Y.; BAEK, N.; PARK, K. Microencapsulation methods for delivery protein drugs. **Biotechnology methods for delivery Engineering**, v. 6, n. 4, p. 213-230, 2001.
- ZANCAN, W. L. A.; MACHADO, J. C.; SOUSA, B. F. M.; MATOS, C. S. M. Crescimento micelial, produção e germinação de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* na presença de fungicidas químicos e *Trichoderma harzianum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 5, p. 782-789, 2012.
- ZHAO, L.; ZHANG, J. A method using *Trichoderma aculeatus* in the synthesis of silver nanoparticles. CN Pat. 105039419 B, octubre 17, 2017.



# Riesgos de la producción artesanal de microorganismos

*Fernando Hercos Valicente*

*Ubiraci Gomes de Paula Lana*

*Jéssica Leticia Abreu Martins*

*Ana Clara Pimenta Pereira*

*Amanda Naye Guimarães Tavares*

*Frederick Mendes Aguiar*

Brasil se destaca por ser un país de dimensiones continentales, un clima predominantemente tropical y grandes extensiones de áreas sembradas con cultivos de importancia agrícola. De vez en cuando surgen fronteras agrícolas, siendo la más reciente MATOPIBA que incluye los estados de Maranhão, Tocantins, Piauí y Bahía, con gran capacidad productiva. En la mayoría de estas áreas, se realizan tres plantaciones anuales, lo que cambia radicalmente el paisaje agrícola brasileño, donde los problemas fitosanitarios ocurren durante todo el año. En este “puente verde”, que se hace con tres siembras al año, puede observarse principalmente con los cultivos de maíz, soja, algodón, frijol, etc. En Mato Grosso, por ejemplo, se siembra soja temprana en septiembre, soja tardía, algodón convencional, maíz convencional y algodón de segunda cosecha. Hay varias plagas y enfermedades importantes en este escenario único de la agricultura brasileña. El gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, por ejemplo, destaca por ser una plaga polífaga, que puede alimentarse de maíz, sorgo, soja, algodón, frijol, etc. El gusano falso medidor, *Chrysodeixis includes*, que hasta hace 10 años era una plaga secundaria de los cultivos de soja, es otra plaga importante en este escenario, ya que es un importante defoliador de la soja y el algodón.

Dentro de este contexto, los problemas fitosanitarios ocurren con mayor frecuencia e incluyen la presencia de plagas y enfermedades en diferentes cultivos. Ante los desafíos que, constantemente encontrados en el campo para aumentar la producción de granos, la productividad y disminuir los costos, se ha intensificado la búsqueda de alternativas al uso de

plaguicidas. Lo que se busca son agentes de control biológico con costo de producción reducido y alta eficiencia para permitir que la tecnología relacionada con los productos biológicos esté disponible en el mercado y sea distribuida a diferentes cultivos.

Entre los organismos utilizados como control biológico de plagas y enfermedades, algunos de los agentes más difundidos son los hongos del género *Trichoderma* y la bacteria *Bacillus thuringiensis*.

### ***Trichoderma* spp.**

Según Bettiol et al. (2012), *Trichoderma* es uno de los principales agentes de control biológico utilizados en la agricultura y presenta resultados significativos en el control de una amplia gama de enfermedades.

Para que el control en campo sea efectivo, es necesario garantizar la calidad de todos los pasos involucrados en el proceso de producción, con el fin de garantizar la viabilidad del organismo y vigor necesarios (Adekunle et al., 2001).

Para satisfacer la gran demanda de productos biológicos, se hace necesaria la producción a gran escala del agente de biocontrol para abastecer un mercado en expansión y garantizar la distribución y aplicación del producto. Los estudios de Singh et al. (2007) mostraron varios sustratos potenciales con alta viabilidad para la producción de este hongo, entre ellos sorgo, trigo y arroz en grano. La fácil obtención de estos sustratos y su bajo costo son factores que contribuyen con la viabilidad de la producción industrial de este agente.

Durante el proceso de producción, el hongo se establece sobre el sustrato e inicia el proceso de liberación de esporas, lo cual favorece su reproducción (Hölker et al., 2004), con un periodo de crecimiento del agente de aproximadamente siete días. Uno de los principales problemas involucrados en este proceso es la posibilidad de contaminación del material con otros géneros de hongos e incluso bacterias, lo que genera riesgos para la salud (Bettiol; Morandi, 2009).

Otras metodologías para la producción de hongos fueron presentadas en trabajos de Bettiol y Morandi (2009), quienes usaron un medio líquido para optimizar el espacio, asegurar mayor pureza en el material y reducir el porcentaje de contaminación y así favorecer la propagación del hongo.

Según Anvisa (2013), el término bioseguridad se define como “una condición de seguridad alcanzada mediante un conjunto de acciones destinadas a prevenir, controlar, reducir o eliminar los riesgos inherentes a las actividades que pueden comprometer la salud humana, animal y ambiental”. En este sentido, el control de calidad se convierte en un paso fundamental en el proceso de elaboración de productos a base de microorganismos para

garantizar que el producto final esté libre de contaminación o, por lo menos con un nivel muy bajo, sea seguro tanto para el manipulador como para el medio ambiente y además que mantenga su eficacia.

Las empresas suelen evaluar la calidad de los productos a base de *Trichoderma* según tres criterios, a saber: recuento de esporas (mínimo  $1 \times 10^8$  esporas/g), germinación mínima de 85% y viabilidad mínima de  $8,5 \times 10^7$  CFU/g. Para estas evaluaciones se utilizan diferentes metodologías según la formulación del producto (Bettiol; Morandi, 2009).

El recuento del número de esporas se realiza con la ayuda de una cámara de Neubauer bajo aumento del microscopio. Para ello es necesario preparar una suspensión de esporas de *Trichoderma* y el resultado de este conteo se expresa en número de esporas por peso o volumen de producto biológico formulado. La metodología para evaluar el porcentaje de esporas viables consiste en dispensar una alícuota de la suspensión de esporas de *Trichoderma* en áreas delimitadas de la placa de Petri con medio PDA (agar papa dextrosa), incubar a  $25 \pm 2$  °C para la germinación de esporas y contar el número de esporas viables bajo el microscopio óptico (Bettiol et al., 2012). Para cuantificar las unidades formadoras de colonias (UFC) la metodología consiste en homogeneizar el producto a base de *Trichoderma* con una solución salina esterilizada mezclada con Tween 80. A partir de esta solución se realizan diluciones seriadas, las cuales se distribuyen en cajas Petri con medio PDA y Triton y se incuban a  $25 \pm 2$  °C en oscuridad para el posterior conteo del número de colonias formadas por *Trichoderma*. El resultado se expresa en unidades formadoras de colonias (UFC/mL) (Bettiol et al., 2012).

Sin embargo, las cepas seleccionadas para la producción de insumos biológicos hechos a base de *Trichoderma* registrados ante el MAPA y los procesos de control de calidad de estos productos son realizados por las empresas en condiciones de laboratorio. En este caso, en un ambiente controlado, los riesgos de contaminación se minimizan y son realizados por profesionales cualificados con la formación técnica necesaria. Para la concesión del registro del producto biológico en el MAPA, las empresas deben cumplir con una extensa lista de prerrequisitos que garantizan la seguridad y eficacia de estos productos (Brasil, 2012).

## Control de calidad

Los riesgos asociados con la producción de agentes de control biológico son muy grandes cuando no se cumplen los estándares y procedimientos de laboratorio.

La producción de *Trichoderma* y otros insumos biológicos a base de microorganismos no se limita al mercado a escala comercial. Ha habido un creciente interés por la “producción casera” de estos bioproductos con el fin de reducir costos con productos fitosanitarios a base de microorganismos, sistema denominado “on farm” (en la finca) (Valicente et al., 2018). Hoy en día, se entiende por producción “on farm” aquella que se realiza en una finca sin las

condiciones mínimas de asepsia. Cabe mencionar que existen productores que cuentan en sus fincas con modernos laboratorios que cumplen con los estándares de producción, los cuales no encajan en el proceso “*on farm*”. En la mayoría de los casos donde se hace una “producción casera”, no se utilizan materiales esterilizados o laboratorios que cumplan los requisitos mínimos para su correcto funcionamiento, de manera de evitar la contaminación del producto final, así como el uso de materiales registrados como fuente de inóculo, sin autorización previa, constituyendo un caso de piratería. El uso de subproductos agroindustriales se considera una alternativa viable y económica para la producción *in situ* de *T. asperellum* (Santos-Villalobos et al., 2012) y *Bacillus thuringiensis* (Valicente; Mourão 2008). En el caso de *Trichoderma*, las esporas del hongo son obtenidas fácilmente mediante la cría sobre sustratos como arroz, maíz u otros granos, lo que permite que el producto final se aplique directamente a los cultivos o al suelo (Woo et al., 2014). Según Woo et al. (2014), los productos a base de *Trichoderma* comercializados están compuestos de una sola especie (67%), siendo el resto una combinación de especies conocidas y/o desconocidas, aislados o una mezcla de *Trichoderma* con otros microorganismos beneficiosos como el hongo micorrízico (*Glomus*) y las bacterias (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, etc.). Si un producto comercial está hecho a base de varios microorganismos benéficos, este también corre el riesgo de contaminación por condiciones que favorecen la rápida multiplicación de microorganismos indeseables y que pueden representar un riesgo para la salud humana y animal, además de la baja calidad del producto.

Además, existe una gran variedad de especies del género *Trichoderma* identificadas en diferentes ecosistemas. En un solo aislamiento realizado en una muestra de suelo en el sur de Alemania fueron identificados más de 350 materiales genéticos diferentes de *Trichoderma* spp. (Meincke et al., 2010). Algunas especies son consideradas patógenos de humanos, como *T. longibrachiatum*, relacionada con infecciones pulmonares (Miguel et al., 2005) y *T. fungemia*, relacionada con infecciones bacterianas en pacientes hospitalizados (Lagrange-Xélot et al., 2008). Asimismo, algunas especies producen metabolitos secundarios potencialmente tóxicos para animales y plantas, como tricotecenos y péptidos cíclicos, clasificados como micotoxinas. Los tricotecenos perjudican el crecimiento de las plantas y los péptidos cíclicos provocan la muerte celular al atacar la membrana de las células bacterianas eucariotas. Los isocianuros, otro tipo de metabolito secundario, atacan a los microorganismos del rumen en carneros y ovejas (Sandle, 2014). Estas investigaciones muestran la importancia de trabajar con el aislado puro, sin contaminantes, para que en el proceso de producción a gran escala no se reproduzcan organismos indeseables que puedan causar daño a los mamíferos.

Todos estos factores refuerzan aún más la importancia de aplicar técnicas específicas para la elaboración de productos biológicos basados en el uso de microorganismos tales como: virus, hongos, bacterias, etc. Cada organismo tiene una necesidad diferente de alcanzar una

concentración máxima en la elaboración final del producto. La ineficacia e inconsistencia de los resultados del desempeño en campo dificultan la difusión y el uso frecuente de productos elaborados de manera inadecuada en las propiedades rurales. Estos factores refuerzan la necesidad de control de calidad con la selección de aislamientos adecuados para ser utilizados en el control biológico.

Sivila y Álvarez (2013) publicaron el manual denominado “Producción Artesanal de *Trichoderma*”, dirigido a pequeños productores de la agricultura familiar. Los autores aclaran qué es el control biológico de las enfermedades de las plantas, qué son los microorganismos antagonicos, cuáles son las características del hongo *Trichoderma* sp. y sus mecanismos de acción para el control biológico de enfermedades que conducen a la protección de determinados cultivos.

También según Sivila y Alvarez (2013), para la producción de *Trichoderma*, la metodología más simple a utilizar es la fermentación sólida y este proceso se divide en varios pasos. Estos pasos son básicos para cualquier producción de producto orgánico, incluso para *B. thuringiensis*:

1. Selección del sustrato.
2. Preparación y acondicionamiento del sustrato.
3. Esterilización del material.
4. Inoculación del hongo *Trichoderma*.
5. Incubación.
6. Puede ser utilizado en campo o seco y formulado.
7. Secado.
8. Empaquetado.
9. Almacenamiento.

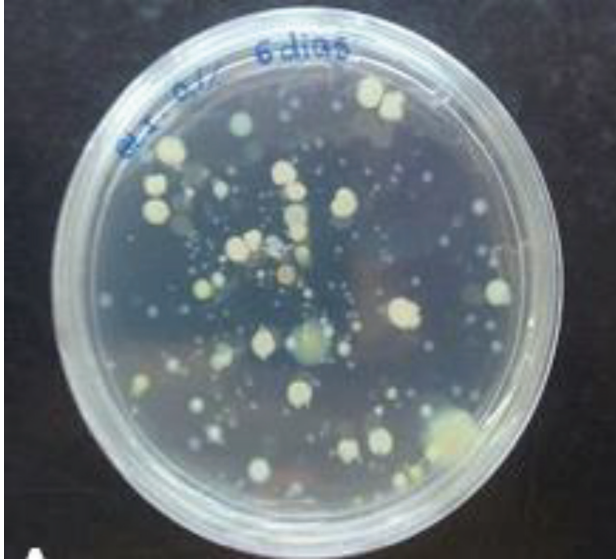
Para asegurar el control de calidad de los productos biológicos hechos a base de *Trichoderma* de manera artesanal, Sivila y Alvarez (2013) sugieren cuatro pruebas: determinación del grado de antagonismo, determinación de producción de esporas, determinación de viabilidad de esporas y determinación de contaminantes (pureza).

Sin embargo, los agricultores en unidades de producción familiar generalmente no cuentan con una estructura física para realizar los trámites para la producción de *Trichoderma*. En la etapa III de producción, donde uno de los procesos es la esterilización del sustrato, se suele utilizar baño María, ya que los productores no cuentan con autoclave. En el paso IV, la campana de flujo laminar a menudo se reemplaza por solo una llama debajo de un banco limpio con jabón y lejía comercial. La selección del aislado y el proceso de control de calidad depende de los laboratorios de microbiología, no siendo posible realizar las pruebas en predios rurales (Sivila; Álvarez, 2013).



Todos estos aspectos pueden reducir la calidad del producto final, lo que puede poner en riesgo la salud de los propios agricultores y puede dispersar organismos indeseables en el medio ambiente, como lo observaron Valicente et al. (2018) en la evaluación de la calidad de bioinsecticidas a base de *B. thuringiensis* producidos en predios rurales bajo el sistema “on farm”. En los sistemas de producción, todos los materiales y reactivos en los medios de cultivo, sin excepción, deben ser esterilizados (autoclavados a 120 °C durante 20 a 30 minutos) e inoculados con una cepa limpia, libre de contaminantes. Sin embargo, la producción que se realiza en predios rurales, en su mayoría, no cuenta con las condiciones de infraestructura requeridas, seguridad e higiene (Valicente et al., 2018). Valicente et al. (2018) analizó tres muestras de *B. thuringiensis* de producción casera, en condiciones de producción inadecuadas, sin la higiene y esterilización necesarias. Se identificaron decenas de especies de microorganismos distintos en muestras de productos que deberían contener solo esporas viables y cristales de *Bacillus thuringiensis*. La identificación de estas bacterias de diferentes especies demuestra que estos productos pueden causar serios problemas de salud, lo que termina afectando no solo a los involucrados en la producción realizada sin los debidos cuidados higiénicos. Algunas muestras de *B. thuringiensis* (Bt) producidas de forma casera en propiedades rurales y con medios alternativos ya han sido probadas y consideradas no aptas para su uso como biopesticida. Se encontraron varios tipos de contaminantes con morfología y color diferente al Bt, entre ellos *B. cereus* y bacterias del género *Microbacterium*, que son patógenos oportunistas asociados a infecciones humanas. La prevalencia de *Enterococcus casseliflavus* y *E. gallinarum* es preocupante, ya que estas especies se han asociado con endocarditis (Dargere et al., 2002) y meningitis en humanos (Iaria et al., 2005; Antonello et al., 2010). La figura 1 muestra placas con colonias aisladas de materiales de fermentación casera, donde se observan colonias irregulares y con diversas coloraciones.

Foto: Uibraci Gomes de Paula Lima;



**Figura 1.** Colonias atípicas aisladas de muestras recibidas de producción casera sin asepsia.

### Consideraciones finales

En el proceso de producción industrial de *Trichoderma*, el control de calidad se convierte en un paso fundamental, ya que es posible determinar la concentración y viabilidad de esporas y la determinación de contaminantes, algo que no es posible obtener en un sistema de producción casero.

Además de problemas de calidad, la producción casera puede poner en peligro la salud de los propios agricultores, además de contener microorganismos indeseables para el medio ambiente.

## Referencias

- ADEKUNLE, A. T.; CARDWELL, K. F.; FLORINI, D. A.; IKOTUN, T. Seed treatment with *Trichoderma* species for control of damping-off cowpea caused by *Macrophomina phaseolina*. **Biocontrol Science Technolology**, v. 11, n. 4, p. 449-457, 2001.
- ANTONELLO, V. S.; ZENKNER, F. de M.; FRANCA, J.; SANTOS, B. R. *Enterococcus gallinarum meningitis* in an immunocompetent host: a case report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 2, p. 111-112, 2010.
- ANVISA - AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência a Saúde**. Módulo 1: Biossegurança e Manutenção de Equipamentos em Laboratório de Microbiologia Clínica. Brasília, DF, 2013. 44 p.
- BETTJOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341 p.
- BETTJOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; NASCIMENTO, R.; AGOSTINI, E. R. dos S.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R.; HADDAD, P. E. **Avaliação da qualidade de produtos à base de *Trichoderma*: curso**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 46 p. apostila.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins. **Manual de Procedimentos para Registro de Agrotóxicos**. Brasília, DF: MAPA, 2012. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecu-rios/insumos-agricolas/agrototoxicos/arquivos/manual-de-procedimentos-para-registro-de-agrototoxicos.pdf>>. Acesso el 18 mar. 2019.
- DARGERÉ, S.; VERGNAUD, M.; VERDON, R.; SALOUC, E.; LE PAGE, O.; LECLERCQ, R.; BAZIN, C. *Enterococcus gallinarum* endocarditis occurring on native heart valves. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 6, p. 2308-2310, 2002.
- HÖLKER, U.; HÖFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, n. 2, p. 175-186, 2004.
- IARIA, C.; STASSI, G.; COSTA, G. B.; DI LEO, R.; TOSCANA, A.; CASCIO, A. *Enterococcal meningitis* caused by *Enterococcus casseliflavus*. First case report. **BMC Infectious Diseases**, v. 5, n. 1, p. 3, 2005.
- LAGRANGE-XÉLOT, M.; SCHLEMMER, F.; GALLIEN, S.; LACROIX, B.; MOLINA, J. M. *Trichoderma fungemia* in a neutropenic patient with pulmonary cancer and human immunodeficiency virus infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, n. 12, p. 1190-1192, 2008.
- MEINCKE, R.; WEINERT, N.; RADL, V.; SCHOLTER, M.; SMALLA, K.; BERG, G. Development of a molecular approach to describe the composition of *Trichoderma* communities. **Journal of Microbiological Methods**, v. 80, n. 1, p. 63-69, 2010.
- MIGUEL, D.; GÓMEZ, P.; GONZÁLEZ, R.; GARCÍA-SUÁREZ, J.; CUADROS, J. A.; BANÁS, M. H.; ROMANYK, J.; BURGALETA, C. Non-fatal pulmonar *Trichoderma viride* infection in an adult patient with acute myeloid leukemia: report of one case and review of the literature. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 53, n. 1, p. 33-37, 2005.
- SANDLE, T. *Trichoderma*. In: BATT, C. A.; TORTORELLO, M. L. (Ed.). **Encyclopedia of Food Microbiology**. 2nd ed. Ámsterdam: Elsevier, 2014. p. 644-646.
- SANTOS-VILLALOBOS, S.; HERNANDEZ-RODRIGUEZ, L. E.; VILLASEÑOR-ORTEGA, F.; PEÑA-CABRIALES, J. J. Production of *Trichoderma asperellum* T8a spores by a "home-made" solid-state fermentation of mango industrial wastes. **Bioresource**, v. 7, n. 4, p. 4938-4951, 2012.
- SINGH, A.; SRIVASTAVA, S.; SINGH, H. B. Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 2, p. 470-473, 2007.
- SIVILA, N.; ÁLVAREZ, S. **Tecnologías agroecológicas para la agricultura familiar: producción artesanal de *Trichoderma***. San Salvador de Jujuy: Universidad Nacional de Jujuy, Facultad de Ciencias Agrarias, 2013. 50 p.
- VALICENTE, F. H.; LANA, U. G. de P.; PEREIRA, A. C. P.; MARTINS, J. L. A.; TAVARES, A. N. G. **Riscos à produção de biopesticida à base de *Bacillus thuringiensis***. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018. 20 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 239).
- VALICENTE, F. H.; MOURÃO, A. H. C. Use of by-products rich in carbon and nitrogen as a nutrient source to produce *Bacillus thuringiensis* (Berliner)-Based biopesticide. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 6, p. 702-708, 2008.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MAGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, supl. 1, p. 71-126, 2014.

# Compatibilidad de los productos a base de *Trichoderma* con fungicidas utilizados en el tratamiento de semillas

*Nean Locatelli Dalacosta*

*Silvânia Helena Furlan*

*Sérgio Miguel Mazaro*

## Introducción

La ocurrencia de resistencia a las moléculas químicas en los agentes fitopatógenos ha preocupado a la industria, técnicos y productores, debido a la reducción de la eficiencia en el control y la falta de una perspectiva a corto plazo de la aparición de nuevas moléculas.

Además del tema de la resistencia, en muchos patosistemas, el uso de químicos no es eficiente, ya que, en las enfermedades de la raíz no es posible alcanzar los objetivos biológicos a través de aplicaciones foliares, debido a que estos fungicidas no se translocan vía floema. Además, las estructuras de resistencia de algunos patógenos, como los esclerocios, no se controlan adecuadamente ni son afectadas por las aplicaciones de fungicidas químicos.

En ese sentido, el manejo de enfermedades de plantas involucra el uso de productos biológicos, y con eso, muchas empresas han invertido en nuevos biofungicidas, hecho que se puede observar por el crecimiento que presenta el sector, el cual tiene proyecciones de un crecimiento de 20% por año, según la Asociación Brasileña de Empresas de Control Biológico (ABCBio).

*Trichoderma* spp. es uno de los microorganismos más estudiados en el mundo (Bettiol et al., 2012). Esto se debe a su alta versatilidad en sus modos de acción (parasitismo, antibiosis, competencia) y, además inducen resistencia en las plantas y producen sideróforos. Se encuentran en diferentes ambientes, presentan un rápido crecimiento en diferentes medios, lo que facilita la producción en masa. Además, son capaces de actuar como bioestimulantes,

promoviendo el crecimiento de las plantas mediante la liberación de fitohormonas y la solubilización de nutrientes (Machado et al., 2012).

El manejo integrado usando productos químicos junto con hongos antagonistas es una práctica fundamental para aumentar la eficiencia del control de fitopatógenos en los cultivos agrícolas. Así, el uso de productos químicos asociados al control biológico, especialmente especies de *Trichoderma*, ha ido incrementando.

De ese modo, el uso combinado del control químico con el control biológico puede ser una mejor opción porque permite la interacción positiva cuando se compara con la efectividad del uso de métodos aislados, obteniendo efectos aditivos o sinérgicos (Srinivas; Ramakrishnan 2002).

La interacción positiva entre los productos químicos y biológicos puede estar relacionada con el control inicial de los patógenos por medio de fungicidas y la posterior estabilización con los productos biológicos, reduciendo así la infección con patógenos (Luz, 2003).

Sin embargo, el uso de productos químicos con frecuencia puede actuar de forma no deseada en el desarrollo del agente de control biológico, reduciendo su potencial de acción o provocando su inviabilidad (Ávila et al., 2005; Dias Neto, 2014).

Los fungicidas químicos pueden afectar el crecimiento vegetativo, la viabilidad y la conidiogénesis de los antagonistas, afectando los mecanismos de acción e incluso su composición genética (Ribas, 2010).

Se ha reportado que varias especies del género *Trichoderma* tienen resistencia innata y/o inducida a muchos fungicidas, sin embargo, esta resistencia puede ser diferente dependiendo del fungicida utilizado (Khan; Shahzad, 2007).

Para el uso adecuado de *Trichoderma* en combinación con productos químicos, es necesario considerar las múltiples variables involucradas, como la diversidad de principios activos, las concentraciones, la combinación de productos, los diferentes cultivos y la forma de aplicación de los productos.

Además, la industria presenta una diversidad de información entre los fabricantes de productos biológicos, y en muchos casos no toma en cuenta la forma de aplicación de los químicos o biológicos, ya sea en semillas, surcos de siembra o en aplicación foliar. Este hecho dificulta al usuario de hacer una aplicación con seguridad en términos de compatibilidad.

### **Estudios de compatibilidad con productos químicos para el tratamiento de semillas de los principales cultivos agrícolas**

En los principales cultivos, *Trichoderma* se posiciona por su aplicación de forma aislada, es decir, sin mezclar con productos químicos, excepto cuando se utiliza en el tratamiento de semillas, en situaciones en que el tratamiento se realiza en la propiedad (*on farm*) o los tratamientos industriales (TSI). Por lo tanto, este capítulo abordará el tema de la compatibilidad

considerando su uso en el tratamiento de semillas en los principales cultivos agrícolas, tales como soya, frijol, maíz, algodón y trigo.

Para el estudio de la compatibilidad e incompatibilidad, se recopiló información sobre productos registrados en Brasil para estos cultivos, considerando sus ingredientes activos (Agrofit, 2003c). Existe una gran diversidad de productos, sin embargo, muestran mucha similitud en cuanto a sus principios activos, lo que se puede apreciar en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Ingredientes activos registrados para el tratamiento de semillas de los principales cultivos agrícolas

Ingredientes activos	Cultivos agrícolas
Azoxistrobina + fludioxonil + metalaxil-M	Algodón
Captan	Maíz
Carbendazim	Algodón, frijol, soya y trigo
Carboxina + tiram	Algodón, frijol, maíz, soya y trigo
Carbendazim + tiram	Algodón, maíz y soya
Difenoconazol	Algodón, frijol, soya y trigo
Difenoconazol+ fludioxonil	Soja
Difenoconazol + metalaxil-M	Trigo
Fluazinam + tiofanato de metilo	Algodón, frijol, maíz, soya y trigo
Fludioxonil	Algodón, frijol, maíz y soya
Fludioxonil + metalaxil-M	Frijol, maíz y soya
Fludioxonil + metalaxil-m + tiabendazol	Frijol, maíz y soya
Flutriafol	Algodón, frijol, soya y trigo
Ipconazol + tiram	Soja
Iprodiona	Trigo
Piraclostrobina + tiofanato de metilo	Algodón, frijol, maíz, soya y trigo
Quintozeno	Algodón y frijol
Tiram	Algodón, maíz, soya y trigo
Triadimenol	Algodón y trigo

Fuente Agrofit (2003c).

En la tabla 2 se muestra una revisión bibliográfica de los trabajos desarrollados sobre la compatibilidad e incompatibilidad de *Trichoderma* con los principios activos de los fungicidas mencionados en la tabla 1 y utilizados en los principales cultivos agrícolas.

**Tabla 2.** Estudios de compatibilidad/incompatibilidad de *Trichoderma* spp. con principios activos de fungicidas

Ingredientes activos	Especies	Compatibilidad	Autores
Azoxistrobina + fludioxonil + metalaxil-M		No reportado	
Captan	<i>T. viride</i> <i>T. harzianum</i>	Parcialmente compatible dependiendo del aislado	Ribas, 2010 Bhale; Rajkonda, 2015 Gowdar et al., 2006
Carbendazim	<i>T. viride</i> <i>T. harzian</i> <i>T. asperellum</i>	Incompatible	Kumar et. al, 2018 Ribas, 2010 Ishizuka, 2016 Gowdar et al., 2006
Carboxina + tiram	<i>Trichoderma</i> sp.	Parcialmente compatible	Pandolfo, 2007
Carbendazim + tiram	<i>T. harzianum</i>	Incompatible	Dalacosta, 2019
Difenoconazol	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Incompatible	Ishizuka, 2016
Fluazinam	<i>T. viride</i> <i>T. harzianum</i>	Incompatible	Ribas, 2010
Fluazinam + tiofanato de metilo	<i>T. harzianum</i>	Parcialmente compatible	Dalacosta, 2019
Fludioxonil	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Parcialmente compatible	Ishizuka, 2016
Fludioxonil + metalaxil-M	<i>T. harzianum</i>	Compatible	Dalacosta, 2019
Fludioxonil + metalaxil-M + tiabendazol	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Parcialmente compatible Incompatible	Ishizuka, 2016
Flutriafol	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Incompatible y parcialmente compatible dependiendo del aislado	Ishizuka, 2016
Ipconazol + tiram		No reportado	
Iprodiona	<i>T. viride</i> <i>T. harzianum</i>	Incompatible	Ribas, 2010. Silva et al., 1999
Piraclostrobina + tiofanato de metilo	<i>T. harzianum</i>	Parcialmente compatible	Dalacosta, 2019
Tiabendazol	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Incompatible	Ishizuka, 2016 Herrera et al., 2012
Quintozeno		No reportado	
Tiram	<i>T. harzianum</i> <i>T. asperellum</i>	Compatible	Ishizuka, 2016 Pandya et al. 2012 Gowdar et al., 2006
Tiofanato de metilo	<i>T. viride</i> <i>T. harzianum</i>	Parcialmente compatible	Ribas, 2010 Ishizuka, 2016
Triadimenol		No reportado	

Aunque se observa falta de información en la literatura, en general existe acuerdo en cuanto a incompatibilidades o compatibilidades (Tabla 2), incluso con diferentes metodologías de evaluación.

La compatibilidad o incompatibilidad está estrechamente relacionada con la sensibilidad de los diferentes aislados de *Trichoderma* y también con los grupos químicos de los fungicidas,

como en el caso de los benzimidazoles, como el carbendazim y el tiabendazol, con los cuales no muestra compatibilidad (Zambolim et al., 2007).

Dalacosta (2019), uno de los autores de este capítulo, desarrolló un estudio con el objetivo de evaluar la compatibilidad de los principales productos utilizados en el tratamiento de semillas en soja (Tabla 3), principal cultivo agrícola en Brasil, con dos formulaciones de *Trichoderma harzianum*, así como probar diferentes metodologías de evaluación.

El trabajo buscó mostrar lo que realmente sucede a nivel de productor o en el mercado con lo relacionado al paquete tecnológico propuesto por las empresas de agroquímicos. Así, se optó por el uso combinado de principios activos, presentes en fungicidas comerciales y que representan los principales mercados considerando su uso en el tratamiento de semillas de soja en el país.

Fueron evaluadas dos formulaciones de *Trichoderma*, gránulos dispersables en agua (PM) o suspensión concentrada (SC), ya que los estudios realizados hasta el momento no abordaron tales diferencias (Tabla 3).

Se evaluó la compatibilidad a través del crecimiento micelial por la metodología de incorporación de productos químicos en el medio de cultivo, según las dosis recomendadas por los fabricantes (Tabla 3).

Se observó que los tratamientos que contenían la combinación de principios activos del tratamiento 2 (tiram/carbendazim) y del tratamiento 3 (tiofanato de metilo/fluazinam) mostraron un efecto fungicida sobre *T. harzianum*, independientemente de la formulación de *Trichoderma* utilizada (Tabla 4).

**Tabla 3.** Principios activos utilizados en el tratamiento de semillas de soja y sus combinaciones con formulaciones de *Trichoderma harzianum*, 2018

Ingrediente activo	Dosis (g de i.a. ha <sup>-1</sup> )	Formulación
Piraclostrobina/tiofanato de metilo	2,5/ 22,5	
Tiram/carbendazim	15/ 35	
Tiofanato de metilo/fluazinam	35/ 5,25	PM**
Metalaxil-M/fludioxonil	0,5/ 12,5	
Piraclostrobina/tiofanato de metilo	2,5/ 22,5	
Tiram/carbendazim	15/ 35	
Tiofanato de metilo/fluazinam	35/ 5,25	SC***
Metalaxil-M/fludioxonil	0,5/ 12,5	
Testigo	9 (1x 10 <sup>10</sup> UFC.ml <sup>-1</sup> ****)	PM
Testigo	5 (2x10 <sup>8</sup> UFC.ml <sup>-1</sup> )	SC

\*Dosis calculada con base en la recomendación de 50 kg de semillas de soja por hectárea.

\*\*PM = *Trichoderma harzianum* en gránulos dispersables en agua.

\*\*\*SC = *Trichoderma harzianum* en suspensión concentrada.

\*\*\*\*UFC = Unidad formadora de colonias.

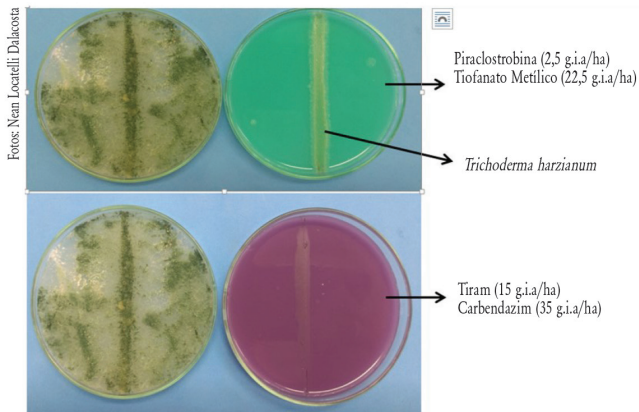


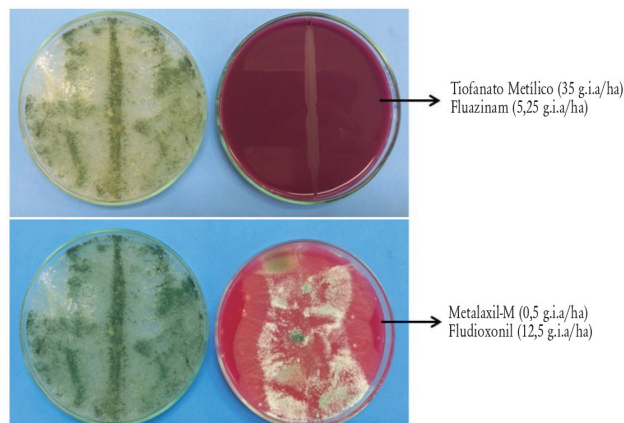
Tabla 4. Crecimiento micelial (cm) e inhibición (%) de dos formulaciones de *Trichoderma* en medio de cultivo modificado con los productos químicos a la dosis de etiqueta, después de 72 horas en BOD a 25 ± 2 °C, 2018

Estándar usado	Formulación del agente de control	Crecimiento micelial (cm)	% de inhibición
Piraclostrobina/tiofanato de metilo	<i>Trichoderma</i> PM	1,11 d*	87,59
Tiram/ carbendazim		0,00 e	100
Tiofanato de metilo/ fluazinam		0,00 e	100
Metalaxil-M/fludioxonil		5,47 b	38,88
Piraclostrobina/tiofanato de metilo	<i>Trichoderma</i> SC	1,15 d	86,97
Tiram/ carbendazim		0,00 e	100
Tiofanato de metilo/ fluazinam		0,00 e	100
Metalaxil-M/fludioxonil		3,42 c	61,26
Testigo	<i>Trichoderma</i> PM	8,95 a	-
Testigo	<i>Trichoderma</i> SC	8,83 a	-
CV (%)		<b>10,33</b>	

\*Medias seguidas de la misma letra en la columna no mostraron diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Scott-Knott (P<0.05).

En la combinación del tratamiento 1 (piraclostrobina/metiltiofanato), aunque hubo desarrollo de *Trichoderma*, el porcentaje de inhibición fue muy alto y solo en el tratamiento 4 que contenía (metalaxil-M/fludioxonil) asociado a *Trichoderma* en formulación PM se obtuvo cierta compatibilidad (Figura 1).





**Figura 1.** Efecto de diferentes principios activos sobre el desarrollo de *T. harzianum*, 2018.

Siguiendo la misma línea de estudios *in vitro*, se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de microdilución en solución, según el protocolo estandarizado por la NCCLS (2002c), con ciertas modificaciones.

Los resultados indican que cuando se usaron las combinaciones que contenían los principios activos tiram/carbendazim y tiofanato de metilo/fluazinam a la dosis de la ficha técnica no hubo desarrollo de *Trichoderma* (Tabla 5), lo que refuerza el resultado obtenido anteriormente. También se pudo observar que la formulación de *Trichoderma* SC (líquido) mostró mayor sensibilidad al ser expuesta a químicos.

**Tabla 5.** Concentración mínima inhibitoria de los diferentes químicos y principios activos de los ACB en relación con la dosis señalada en la ficha técnica, después de 48 horas de incubación a  $25 \pm 2$  °C. 2018

Estándar usado	Formulación del agente de control	
	<i>Trichoderma</i> PM	<i>Trichoderma</i> SC
Piraclostrobina/tiofanato de metilo	2 x*	2x
Tiram/carbendazim	1 x	½ x
Tiofanato de metilo/fluazinam	1 x	x
Metalaxil-M/fludioxonil	2 x	2 x
<b>Principios ativos</b>	<b>Dosis inhibitoria equivalente (g de i.a. ha<sup>-1</sup>)</b>	
Piraclostrobina/tiofanato de metilo	5/45	5/45
Tiram/carbendazim	15/ 35	7,5/17
Tiofanato de metilo/fluazinam	35/5,25	8,75/1,3
Metalaxil-M/fludioxonil	1/25	1/25

\*Concentración mínima de inhibición de los ACB en relación con la dosis de la ficha técnica de los productos.

Con la hipótesis de que en campo la exposición a altas dosis de productos químicos es baja, debido a los factores edafoclimáticos y la estabilidad de los productos, se buscó una metodología que se asemejara a la modalidad de uso en el tratamiento de semillas. Así, se realizó un experimento considerando la incorporación de *Trichoderma* al momento de la siembra.

Para ello, las semillas fueron tratadas con productos químicos a la dosis recomendada por el fabricante (Tabla 3) y con un volumen final de aspersión de 7 mL/kg de semilla<sup>-1</sup>, estas fueron agitadas hasta su homogeneización. Después de 35 días del tratamiento químico de las semillas, y simulando un proceso de adición del producto biológico al momento de la siembra, se adicionaron las formulaciones de *Trichoderma* según las dosis recomendadas por el fabricante (Tabla 2) con un volumen final de solución de 7 mL/kg de semilla<sup>-1</sup>. Luego de este proceso, se dispuso una semilla por caja Petri que contenía medio PDA, contemplando así el tiempo cero, con cuatro repeticiones.

El crecimiento micelial de *Trichoderma* fue evaluado en función del tiempo de almacenamiento de la semilla (0, 6, 12, 18 horas), simulando una condición en la que *Trichoderma* fue incorporado a la semilla, pero la siembra no se realizó de inmediato. Las semillas se almacenaron a temperatura ambiente a la sombra y después fueron colocadas en las placas e incubadas en BOD a 25 ± 2°C (Tabla 6). La evaluación del crecimiento micelial se realizó 18 horas después del tratamiento, con la ayuda de un calibrador, midiendo el diámetro de la colonia en centímetros.

**Tabla 6.** Crecimiento micelial (cm) de *Trichoderma* a diferentes tiempos de almacenamiento de semillas (0, 6, 12 y 18 horas) después del tratamiento con productos químicos, evaluado 18 horas después del tratamiento. Reducción porcentual en relación al control (%R). 2018

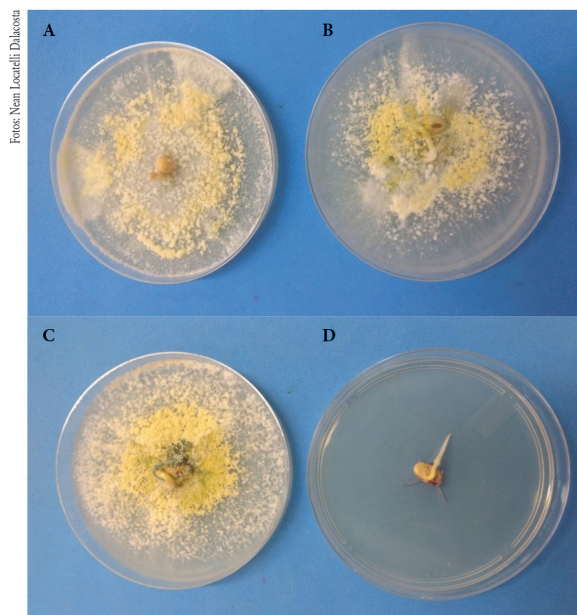
Tratamiento	0 h	%R	6 h	%R	12 h	%R	18 h	%R	Promedio % R
1	7,05 a*	11,87	7,65 a	4,37	7,75 a	3,12	7,35 a	8,12	6,87
2	3,00 c	62,5	4,70 c	41,25	4,85 b	39,37	3,85 c	51,87	48,75
3	7,10 a	11,25	7,30 a	8,75	7,85 a	1,87	7,55 a	5,62	6,87
4	7,45 a	6,87	6,95 a	13,12	6,65 a	16,87	6,25 b	21,87	14,68
5	5,55 b	30,62	6,10 b	23,75	4,65 b	41,87	5,05 b	36,87	33,28
6	0,00 d	100	0,00 e	100	0,00 d	100	0,00 d	100	100
7	4,5 b	40,62	0,00 e	100	0,00 d	100	0,00 d	100	85,15
8	5,70 b	28,75	3,45 d	56,87	2,35 c	70,62	2,65 c	66,87	55,78
9	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-	-
10	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-	8,00 a	-	-

<b>Media</b>	<b>5,66</b>	<b>36,56</b>	<b>5,21</b>	<b>43,51</b>	<b>5,01</b>	<b>46,71</b>	<b>4,87</b>	<b>48,90</b>	<b>43,92</b>
<b>CV (%)</b>	<b>14,89</b>		<b>14,19</b>		<b>15,97</b>		<b>18,40</b>		

\*Valores promedio seguidos de la misma letra en una columna no mostraron diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Scott-Knott ( $P < 0,05$ ). \*\*Tratamientos: 1-Piraclostrobina/tiofanato de metilo; 2-Tiram/carbendazim; 3- Tiofanato de metilo/fluazinam; 4- Metalaxil-M/fludioxonil; 5- Piraclostrobina/tiofanato de metilo; 6- Tiram/carbendazim; 7- Tiofanato de metilo/fluazinam; 8- Metalaxil-M/fludioxonil; 9- Testigo (*Trichoderma* PM); 10 – Testigo (*Trichoderma* SC). Los tratamientos 1 a 4 estaban relacionados con la formulación de *Trichoderma* PM y 5 a 8 con *Trichoderma* SC.

Los resultados indicaron que las combinaciones de productos actuaron de manera diferente sobre el crecimiento de *Trichoderma*. A medida que aumentó el tiempo de almacenamiento, hubo una reducción en el crecimiento de *Trichoderma* en comparación con el control, lo cual era de esperar, dado el mayor tiempo de contacto entre el producto biológico y el tratamiento químico (Tabla 6).

Los productos a base de los principios activos tiram/carbendazim y tiofanato de metilo/fluazinam, los cuales no permitieron el crecimiento de *Trichoderma* en los experimentos anteriores (Tabla 4 y 5), si permitieron el desarrollo de *Trichoderma* en la formulación PM. En cuanto a la formulación SC, estos principios activos tuvieron un efecto fungicida sobre *Trichoderma* (Figura 2).



**Figura 2** - Crecimiento micelial de *Trichoderma* en la semilla, asociado a tratamientos químicos. (A) Formulación de *T. harzianum* PM sin tratamiento químico (testigo). (B) *T. harzianum* en formulación de PM + piraclostrobina/metiltiofanato. (C) Formulación de *T. harzianum* SC sin tratamiento químico (control). (D) *T. harzianum* en formulación de SC + *Trichoderma* SC + Tiram/carbendazim.

Nuevamente, la formulación de *Trichoderma* en SC (líquido) fue más afectada por los productos químicos, este hecho puede estar asociado a la hidratación de las esporas en la solución, lo que permite un mayor contacto con la solución, en el caso de los principios activos. En la formulación de PM, la espora está intacta y existe la necesidad de una hidratación inicial, lo cual prolonga la vida útil de *Trichoderma*.

Con base en estos experimentos, fue posible observar que los tratamientos que contenían los principios activos piraclostrobina/metiltiofanato y metalaxil-M/fludioxonil fueron menos agresivos contra *Trichoderma* cuando son incorporados al medio de cultivo. Cuando se incorpora a la semilla, se agrega el tratamiento que contiene tiofanato de metilo/fluazinam para la formulación de PM. La incompatibilidad con tiram + carbendazim posiblemente esté relacionada con la sensibilidad de *Trichoderma* al grupo benzimidazol, en este caso carbendazim (Zambolim et al., 2007).

Aún en lo que respecta al tratamiento de semillas (TS) de soja, utilizando otra metodología, la factibilidad de asociar el tratamiento químico (fungicidas) con el tratamiento biológico a base de *Trichoderma harzianum*, en dos lotes de semillas, de bajo (74,0%) y alto vigor (92,0%), cuando se almacenan en diferentes periodos de tiempo: 14 horas, 7 días, 15 días y 30 días después de la TS (datos del autor, Furlan, 2010).

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la compatibilidad de tres fungicidas para TS de soja con una formulación en polvo mojable de *Trichoderma*. Se utilizaron 400 g de semillas por tratamiento, tratándolas inicialmente con agua + fungicida y luego con el producto biológico en las dosis recomendadas de uso.

Las semillas se dividieron en cuatro partes iguales para ser tratadas y utilizadas según diferentes tiempos de almacenamiento, en condiciones de laboratorio y colocadas en bolsas de papel. Después del tiempo de almacenamiento de cada tratamiento, las semillas tratadas fueron transferidas a cajas Petri que contenían papel filtro empapado en agua destilada (Blotertest). Se incubaron en DBO durante 7 días, fotoperiodo de 12 horas y a una temperatura de 26-27 °C para favorecer el desarrollo del agente biológico. Las semillas con colonias del hongo antagonista fueron evaluadas y contadas con la ayuda de un microscopio estereoscópico.

Los tratamientos fungicidas (Tablas 7 y 8, respectivamente para las semillas de bajo y alto vigor) incluyeron entre ellos el fungicida fluquinconazol, que en el momento del trabajo se recomendaba para el control de la roya asiática (*Phakopsora pachyrhizi*). Actualmente, no forma parte de las recomendaciones para TS de soja, siendo un fungicida triazolico formulado con un único principio activo. El tratamiento control absoluto se refiere a las semillas no tratadas con ninguno de los productos (químicos o biológicos), y que, por tanto, justifica la ausencia del crecimiento de colonias de *Trichoderma* en las semillas incubadas.

Los datos se obtuvieron por conteo de semillas con presencia del agente biológico; se transformaron en porcentajes y se presentaron para cada uno de los dos lotes de semillas utilizados en las Tablas 7 y 8.

Tanto en semillas de bajo como de alto vigor se observa que hubo una colonización significativa de *Trichoderma* en semillas tratadas con el antagonista, sin presencia de químicos; sin embargo, esto solo ocurrió cuando se almacenaron por algunas horas (14 horas después del tratamiento). Por lo tanto, cuando se asoció con el tratamiento químico, no ocurrió lo mismo. El período de almacenamiento tuvo un efecto negativo en la supervivencia del agente biológico, independientemente de la calidad fisiológica de las semillas. A partir de las 14 horas, hubo menor crecimiento de colonias y prácticamente ningún crecimiento cuando se asoció con fungicidas, independientemente del ingrediente activo (Tablas 7 y 8 y Figuras 3 y 4).

Finalmente, en este trabajo, ninguna de las combinaciones probadas del producto biológico y el químico fue lo suficientemente positiva como para justificar la práctica de mezclar los productos, especialmente con tiempos de exposición más largos, notándose una caída significativa en la supervivencia de *Trichoderma*. Sin embargo, como ya se discutió aquí, los resultados de la inhibición antagonista pueden ser menos drásticos en condiciones de campo, debido a varios efectos relacionados con otros factores no considerados aquí por las condiciones de laboratorio en las que se realizó esta prueba.

**Tabla 7.** Semillas de soja de bajo vigor (74%): porcentaje de semillas con presencia de colonias de *Trichoderma harzianum* después del tratamiento químico y/o biológico, en diferentes períodos de almacenamiento. Semillas incubadas en BOD de  $z$  25 a 26 °C y fotoperiodo de 12 horas durante 7 días

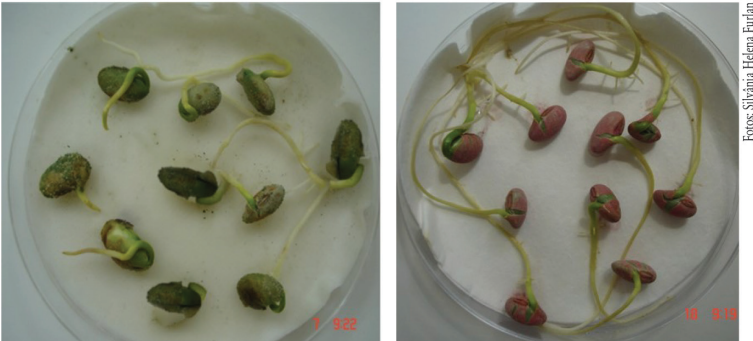
Tratamientos	% de semillas colonizadas por <i>Trichoderma</i>			
	Periodos de almacenamiento de las semillas después del tratamiento			
	14 h	7 días	15 días	30 días
1 - <i>Trichoderma</i>	100	78,5	56,5	19,0
2 - <i>Trichoderma</i> + Fluquinconazole	14	0	0	0
3 - <i>Trichoderma</i> + Fluquinconazole + Carboxin/Tiram	4	0	0	0
4 - <i>Trichoderma</i> + Carbendazim/Tiram	10	0	0	0
5- Testigo absoluto	0	0	0	0

\*Dosis utilizadas en g. o ml por 100 kg. semilla: 1- *Trichoderma* (500g); 2- *Trichoderma* + fluquinconazol (500g. + 300mL); *Trichoderma* + fluquinconazol + carboxim/Tiram(500g + 300mL. + 200mL); 4- *Trichoderma* + carbendazim/Tiram (500g. + 200ml).

**Tabla 8.** Semillas de soja con alto vigor (92%): porcentaje de semillas con presencia de colonias de *Trichoderma harzianum* después del tratamiento químico y/o biológico en diferentes periodos de almacenamiento. Semillas incubadas en BOD a 25 a 26 °C y fotoperiodo de 12 horas durante 7 días

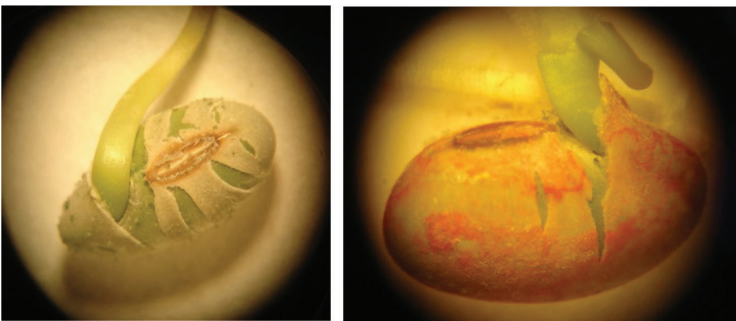
Tratamientos	% de semillas colonizadas por <i>Trichoderma</i>			
	Periodos de almacenamiento de las semillas después del tratamiento			
	14 h	7 días	15 días	30 días
1- <i>Trichoderma</i>	94	90	87,5	2,0
2- <i>Trichoderma</i> + Fluquinconazol	22	0	0	0
3- <i>Trichoderma</i> + Fluquinconazol + Carboxim/Tiram	2	0	0	0
4- <i>Trichoderma</i> + Carbendazim/Tiram	12	0	0	0
5- Testigo absoluto	0	0	0	0

\*Dosis utilizadas en g. o ml por 100 kg. semilla: 1- *Trichoderma* (500g); 2- *Trichoderma* + fluquinconazol (500g. + 300mL); *Trichoderma* + fluquinconazol + carboxim/Tiram(500g + 300mL. + 200mL); 4- *Trichoderma* + carbendazim/Tiram (500g. + 200ml).



Fotos: Silviana Helena Furlan

**Figura 3.** Semillas tratadas con *Trichoderma harzianum*, 14 horas después del almacenamiento (izquierda), y semillas tratadas con fungicida + *T. harzianum* después de 7 días de almacenamiento, mostrando ausencia del agente biológico por incompatibilidad (derecha).



Fotos: Silviana Helena Furlan

**Figura 4.** Detalle de la semilla tratada con *Trichoderma harzianum* luego de 14 horas de tratamiento (izquierda) y tratada con *T. harzianum* + fungicida, almacenada por 7 días (derecha), evaluada por Bloter-test. En la primera se observan colonias de *Trichoderma* y en la segunda su ausencia por el uso de fungicida y/o efecto del almacenamiento.



Otro experimento realizado por Furlan (2008) en el Instituto Biológico, se refiere a la selectividad de tres fungicidas, procimidona, fluazinam y azoxystrobina para dos productos formulados a base de *Trichoderma harzianum*, uno en la formulación de polvo mojable y el otro en aceite (líquido). Se evaluó la compatibilidad *in vitro* entre los principios activos y el antagonista. Los productos fueron seleccionados debido a que son comúnmente usados para el manejo de enfermedades del frijol, especialmente para la pudrición blanca causada por el hongo *Sclerotinia sclerotiorum* y también para otros hongos habitantes del suelo en este cultivo.

Se usaron las concentraciones de 0, 10 y 100 ppm de i.a. de los fungicidas, que se incorporaron al medio PDA, distribuidos en cajas Petri, las cuales, luego de la solidificación del medio, recibieron en su superficie una alícuota de 1,0 mL de cada uno de los dos productos biológicos, siendo ambas formulaciones diluidas en la misma proporción ( $1 \times 10^7$  ufc/ml).

Luego del período de incubación en las placas, se realizó una evaluación cualitativa de las colonias de *Trichoderma harzianum*, con base en el crecimiento micelial y la esporulación, la cual se visualiza por el color típico (verdoso), considerando que el testigo (0 ppm i.a. de los fungicidas) mostró máxima esporulación y color verde intenso, típico de la colonia de *Trichoderma*. Así, la máxima puntuación se asignó a las placas testigo sin fungicida, según la escala utilizada, representada por el cubrimiento de toda la placa y la coloración. Los puntajes variaron de 1 a 4, siendo 1= ausencia de esporulación y colonia blanquecina, 2= baja esporulación y colonia verde claro; 3= esporulación moderada y color verde oscuro y 4= esporulación alta y color verde oscuro.

De acuerdo a los resultados (Tabla 9), los tratamientos testigo (0 ppm i.a.) tuvieron el puntaje máximo (4) con abundante esporulación, con diferencias visuales en coloración/ esporulación entre tratamientos. Fluazinam fue el fungicida menos selectivo, presentando los puntajes más bajos, es decir, ejerció una mayor inhibición sobre la esporulación de *Trichoderma*. Mientras que la azoxistrobina y la procimidona ejercieron una menor inhibición sobre las colonias de *Trichoderma*, especialmente cuando se usó la formulación en aceite (forma líquida) en comparación con la formulación PM.

Si bien la inhibición de *Trichoderma* en asociaciones con químicos no fue completa, según lo esperado, se cree que en campo la acción de los químicos es aún menos agresiva debido a la influencia de factores externos en el ambiente, evitando el contacto tan intenso entre el químico y el biológico. El uso aislado del biológico es posiblemente más eficiente que el combinado con los fungicidas aquí evaluados o incluso con otros principios activos de uso común en el cultivo.



**Tabla 9.** Selectividad de tres fungicidas (procimidona, fluazinam y azoxistrobina) a dos formulaciones de *Trichoderma viride*, en polvo mojable y en aceite, evaluada por la intensidad de esporulación de colonias cultivadas en PDA (grados 1 a 4, donde 1= ausencia de esporulación y 4 = máxima esporulación/coloración), después de 5 días de incubación.

Formulación de <i>T. virens</i>	Intensidad de esporulación de <i>Trichoderma</i> (valores de 1 a 4)								
	Concentraciones de los fungicidas en ppm de i.a. 0, 10 y 100								
	procimidona			fluazinam			azoxistrobina		
	0	10	100	0	10	100	0	10	100
WP	4,0	2,5	2,5	4,0	2,0	2,0	4,0	3,8	1,8
Aceite	4,0	3,0	2,7	4,0	2,2	2,0	4,0	4,0	3,5

## Consideraciones finales

*Trichoderma* debe usarse preferentemente en forma aislada sin asociación con productos químicos en el tratamiento de semillas.

La compatibilidad o incompatibilidad está relacionada con los principios activos, pero también existe diversidad de respuesta dependiendo de la especie de aislado de *Trichoderma*.

Los estudios realizados con los principales principios activos, utilizados en el tratamiento de semillas de los principales cultivos agrícolas, demuestran mayor incompatibilidad con los principios activos carbendazim, difenoconazol, fluazinam, iprodiona y tiabendazol.

La formulación de *Trichoderma* en polvo mojable (PM) mostró una mayor respuesta en relación a la compatibilidad, cuando se comparó con las formulaciones en aceite y suspensión concentrada (SC); por lo tanto, se indica una preferencia por la formulación WP cuando se busca la asociación con productos químicos; sin embargo, estas respuestas pueden variar según el patosistema y las diferentes condiciones del medio al que se expone.

El tiempo de exposición de *Trichoderma* al ingrediente activo está directamente relacionado con la incompatibilidad; por lo tanto, cuando se considere el uso de *Trichoderma* con productos químicos para el tratamiento de semillas, la siembra debe realizarse inmediatamente después de esta operación.

La mayoría de las investigaciones de compatibilidad se llevan a cabo utilizando metodologías *in vitro* o condiciones controladas, que son importantes como referencia. Sin embargo, la respuesta de campo puede diferir considerando la dispersión de los principios activos en el suelo y la estabilidad del agente biológico, además de la influencia de numerosos factores externos.

Aún se necesita investigación, considerando principalmente las diferentes interacciones, la variabilidad de *Trichoderma*, la amplia disponibilidad de principios activos de diferentes clases, las condiciones de aplicación e incluso las diversidades edafoclimáticas.

## Referencias

- AGROFIT: consulta abierta. Brasília, DF: MAPA, c2003. Disponible en: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agro\\_fit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons)>. Acceso el: 17 feb. 2019.
- ÁVILA, Z. R.; CARVALHO, S. S.; BRAÚNA, L. M.; GOMES, D. M. P. A.; SILVA, M. C. F.; MELLO, S. C. M. **Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a *Sclerotium rolfii* e *Sclerotinia sclerotiorum***. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos, 2005. 30 p. (Boletim Técnico de Desenvolvimento e Pesquisa, 177).
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; CORRÊA, Ê. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. de C. do B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. (Documentos, 88). 113 p.
- BHALE, U. N.; RAJKONDA, J. N. Compatibility of Fungicides and Antagonistic Activity of *Trichoderma* spp. against plant Pathogens. **Bioscience Methods**, v. 6, n. 3, p. 1-9, 2015.
- DALACOSTA, N. L. **Compatibilidade de *Trichoderma harzianum* associado ao controle químico no tratamento de sementes de soja**. 2019. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco.
- DIAS NETO, J. A. **Associação e compatibilidade de produtos químicos e os fungos *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus* no manejo de fitonematóides na cultura da soja**. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul.
- GOWDAR, S. B.; RAMESH BABU, H. N.; NARGUND, V. B.; KRISHNAPPA, M. Compatibility of fungicides with *Trichoderma harzianum*. **Agricultural Science Digest**, v. 26, n. 4, p. 279-281, 2006.
- HERRERA, R.; NUNEZ, D.; ROMERO, N.; BESOAIN, X.; PEREZ, L. M.; MONTEALEGRE, J. Sensitivity of wild-type and mutant *Trichoderma harzianum* strains to fungicides. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 39, n. 3, p. 569-576, 2012.
- ISHIZUKA, M. S. **Compatibilidade entre tratamentos químico e biológico de sementes de feijão para controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2016. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- KHAN, M. O.; SHAHZAD, S. Screening of *Trichoderma* species for tolerance to fungicides. **Pakistan Journal of Botany**, v. 39, n. 3, p. 945-951, 2007.
- KUMAR, R.; SINGH, S. K.; YADAV, S.; KUMAR, R.; CHOUBEY A. K.; KUMARI, A. Compatibility of *Trichoderma viride* with different fungicide and organic cake. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 2, p. 2398-2401, 2018.
- LUZ, W. C. da. Avaliação dos tratamentos biológico e químico na redução de patógenos em semente de trigo. **Fitopatologia Brasileira** v. 28, n. 1, p. 93-95, 2003.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. da; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica de Fungos Filamentosos: norma aprovada. Wayne, c2002. (NCCLS. Documento M38-A) v. 22, n. 16. 50 p. A permissão para traduzir o M38-A foi concedida à ANVISA por CLSI.
- PANDOLFO, J. D. **Associação de *Trichoderma* sp. e fungicidas no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia, Porto Alegre.
- PANDYA, J. R.; SABALPARA, A. N.; CHAWDA, S. K.; WAGHUNDE, R. R. Compatibility of *Trichoderma harzianum* with fungicides. **BIOINFOLET-A Quarterly Journal of Life Sciences**, v. 9, n. 4b, p. 695-696, 2012.
- RIBAS, P. P. **Compatibilidade de *Trichoderma* spp. a princípios ativos de fungicidas comerciais aplicados na cultura do feijão**. 2010. 104 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia, Porto Alegre.
- SILVA, A. C. F.; ROSA, C. R. E.; MELO, I. S. Sensibilidade de isolados de *Trichoderma* spp. a benomil e iprodione. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 395-399, 1999.
- SRINIVAS, P.; RAMAKRISHNAN, G. Use of native microorganisms and commonly recommended fungicides in integrated management of rice seed borne pathogens. **Annual Plants Protect Science**, v. 10, n. 2, p. 260-264, 2002.
- ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, W. S.; OLIVEIRA, S. H. F. **Manejo da resistência de fungos a fungicidas**. Viçosa: UFV, 2007. 168 p.



# Evaluación en campo del efecto de *Trichoderma* sobre la pudrición blanca

Maurício Conrado Meyer

Hercules Diniz Campos

Murillo Lobo Junior

## Introducción

El hongo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary es el agente causal de la pudrición blanca, una enfermedad de importancia mundial, que afecta la productividad de varios cultivos como la soja [(*Glycine max* (L.) Merr.], frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), canola (*Brassica napus* L.), algodón (*Gossypium hirsutum* L.), maní (*Arachis hypogaea* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), girasol (*Helianthus annuus* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), guisante (*Pisum sativum* L.), entre otros (Boland; Hall 1994; Lobo Junior et al., 2000; Jaccoud Filho et al., 2017).

El patógeno produce estructuras de supervivencia llamadas esclerocios, que permanecen en el suelo y son la principal fuente de inóculo de la pudrición blanca. En condiciones de alta humedad del suelo, temperaturas alrededor de 15 y 20 °C y suelos bajo sombra, los esclerocios germinan produciendo estructuras infectivas (micelio o ascosporas) capaces de desencadenar la enfermedad en las plantas hospedantes (Meyer et al., 2010; Peltier; et al., 2012; Jaccoud Filho et al., 2017).

El manejo de la pudrición blanca requiere la adopción conjunta tanto de medidas culturales, así como el uso de fungicidas y agentes de control biológico, con el fin de prevenir y controlar la enfermedad en las plantas y reducir la cantidad de inóculo (Meyer et al., 2016). La reducción de la población de esclerocios (fuente del inóculo inicial) en el suelo es un elemento clave para el manejo integrado de la enfermedad.

El control biológico de *S. sclerotiorum* es hecho principalmente a través de la acción de microorganismos que parasitan y degradan los esclerocios en el suelo, reduciendo la densidad de inóculo del patógeno en las áreas infestadas. Entre estos microorganismos, los más

utilizados en Brasil se encuentran algunas especies del hongo *Trichoderma* y de la bacteria *Bacillus* y ya hay más de 30 productos registrados y disponibles en el mercado (Meyer et al., 2016; Agrofit, 2003c).

La acción de *Trichoderma* spp. depende en gran medida de las condiciones ambientales favorables para su establecimiento en el suelo, lo que puede limitar su eficiencia en el control de fitopatógenos (Lobo Junior. et al., 2018; Ghazanfar et al., 2018). Esta condición es la principal causa de las variaciones en los resultados en los experimentos sobre la eficiencia del biocontrol de *S. sclerotiorum* por parte de *Trichoderma* spp. (Meyer et al., 2016), realizadas en diferentes municipios.

Otras causas de variación en los resultados pueden ser mejor controladas pues están relacionadas con los procedimientos de laboratorio para verificar la eficacia de los tratamientos biológicos. La eficiencia de los agentes de biocontrol en la prevención de esclerocios de *S. sclerotiorum* en cultivos de soja ha sido evaluada desde 2012 por la red de ensayos cooperativos para el control biológico de la pudrición blanca, realizada por investigadores de varias instituciones de investigación y experimentación del Brasil. Este capítulo presenta el método utilizado en estos ensayos, repetidamente probado y mejorado. Aquí, se hace hincapié en la estandarización de los procedimientos de campo y laboratorio para minimizar los errores experimentales y garantizar la robusticidad de los resultados.

### **Producción de esclerocios en el laboratorio**

Los esclerocios de *S. sclerotiorum* utilizados en los ensayos cooperativos son producidos en laboratorio, con el objetivo de obtener esclerocios libres de posible contaminación por agentes de control biológico de campo. La producción de esclerocios se suele hacer sobre semillas de frijol o granos de avena, esterilizados en autoclave.

Para la producción de esclerocios sobre semillas de frijol se utilizó la metodología adaptada de García et al. (2012). Se utilizan frascos de vidrio con tapa rosca Schott-Duran (capacidad de 500 mL) o Erlenmeyers de 250 mL, en los cuales se agregan 100 g de semillas de frijol humedecidos con 10 mL de agua y sometidos a autoclave durante 20 minutos a 120 °C. Después de 24 horas de reposo, se agregan a las semillas de frijol autoclavados cinco discos de micelio de *S. sclerotiorum* provenientes de las colonias multiplicadas en medio PDA a 24 °C durante cinco días. Los frascos son mantenidos a 20 °C, fotoperiodo de 12 horas, hasta la formación de esclerocios (alrededor de 30 días). Durante los primeros tres días posteriores al subcultivo de los discos de micelio de *S. sclerotiorum* se debe observar si hay producción de abundante micelio blanco, lo que indica la colonización de las semillas por *S. sclerotiorum*. En caso contrario, se recomienda aumentar cuidadosamente la humedad de las semillas, agregando de 1 a 2 mL de agua destilada esterilizada en autoclave, evitando la acumulación del

agua en el fondo de los frascos. El crecimiento micelial sobre el frijol debe ser homogeneizado diariamente, mediante una cuidadosa agitación manual de los frascos durante 30 segundos. Si no se agitan los frascos, en pocos días se forma una masa compacta de micelio, granos y posteriormente esclerocios, que son difíciles de separar.

Para la producción de esclerocios en granos de avena se utilizan 300 g de granos de avena en cáscara, en frascos Schott-Duran (de capacidad de 1000 mL), se agregan 250 mL de agua y se somete dos veces a autoclave durante 30 minutos a 120 °C, a intervalos de 24 horas. Después de 24 horas de reposo, se añaden a la avena autoclavada 10 discos de micelio de *S. sclerotiorum* de las colonias multiplicadas en medio PDA a 24 °C durante cinco días. Los frascos son mantenidos a 20 °C, fotoperiodo de 12 horas, hasta la formación de esclerocios (alrededor de 25 días). Durante los primeros tres días después del subcultivo de los discos de micelio de *S. sclerotiorum*, el crecimiento del micelio en la masa de avena debe homogeneizarse agitando suavemente los matraces de manera manual durante 30 segundos, a intervalos de 12 horas. Este método se puede adaptar, utilizando bolsas de plástico esterilizables en autoclave en lugar de botellas de Schott-Duran®, con el objetivo de aumentar el volumen de producción de esclerocios.

### **Instalación del ensayo en campo**

Los ensayos fueron realizados en campos de soja, con un sistema de siembra directa sobre paja, con cobertura uniforme del suelo con restos de gramíneas, como avena, trigo, cebada, mijo, braquiaria, etc. El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar, con parcelas de seis líneas de 6 m y cuatro repeticiones, considerándose como parcela útil las cuatro líneas centrales de 5 m.

Las muestras que contenían 30 esclerocios fueron colocadas en bolsas de tela de nylon con un tamaño de malla inferior a 1,0 mm (Figura 1) y se colocan en bandejas de espuma de poliestireno (tipo lunch box), con fondo perforado (Figura 2), para asegurar el drenaje del agua de lluvia. Las bandejas fueron rellenas con tierra de laderas, subsuelo o tierra autoclavada. No se utiliza suelo del cultivo para evitar la contaminación con poblaciones nativas de *Trichoderma* spp.

Las bandejas se distribuyen en el centro de las parcelas y se disponen de manera que la mitad de su altura quede por debajo de la superficie del suelo. Cada bandeja debe contener una bolsa de tela conteniendo los esclerocios (Figura 3), la cual deberá estar ligeramente hundida en el suelo en el centro de la bandeja, de modo que la cara superior quede a nivel de la superficie del suelo de la bandeja.

Luego, cada bandeja recibirá una cubierta uniforme de paja picada (Figura 4). Esta cubierta debe provenir de la gramínea utilizada como cobertura del suelo y solo debe utilizarse

las partes aéreas que no hayan tenido contacto con el suelo. Posteriormente se debe regar las bandejas con agua, después de haberla cubierto con la paja para acomodar la misma en la superficie del suelo y garantizar la humedad para los esclerocios.

Fotos: Mauricio Conrado Meyer



**Figura 1.** Bolsas de nylon con un tamaño de malla inferior a 1,0 mm que contienen muestras de esclerocios.

Fotos: Mauricio Conrado Meyer



**Figura 2.** Bandejas de espuma de poliestireno (tipo lunch box) perforadas en la parte inferior.

Los tratamientos se aplican con plantas de soja que estén en los estadios V2 y V4, en días nublados o lluviosos o al final de la tarde (la condición ideal es la ocurrencia de lluvias poco después de la aplicación). Para la aplicación se utiliza un aspersor a presión de CO<sub>2</sub>, compuesto por una barra con cuatro boquillas planas y calibrado para un caudal de 150 litros de aplicación por hectárea. Entre



cada aplicación de cada tratamiento, se debe lavar a fondo el interior del pulverizador, vaciando una botella de 2,0 L (botella pet) de agua. Este lavado del interior del equipo de aspersión debe realizarse fuera del área de ensayo, en dirección del viento contraria al experimento.



Fotos: Mauricio Contrado Meyer

**Figura 3.** Colocación de la muestra de esclerocios en la bandeja



Fotos: Mauricio Contrado Meyer

**Figura 4.** Cubertura de las bandejas con paja de gramíneas

### Evaluación de la viabilidad de los esclerocios

El efecto de los tratamientos de biocontrol sobre la viabilidad de los esclerocios de *S. sclerotiorum* es evaluado por los investigadores que realizan los ensayos, en sus respectivos laboratorios, para evitar posibles interferencias del transporte en los resultados.

Las muestras de esclerocios se recolectan 20 días después de la última aplicación del biofungicida, cuando la soya se encuentra entre las etapas de desarrollo V6 y V7, y cada bolsa de tela es colocada de manera individual en bolsas de papel limpias, identificada y enviada inmediatamente al laboratorio.



## Germinación carpogénica, colonización por *Trichoderma* spp. y viabilidad de los esclerocios

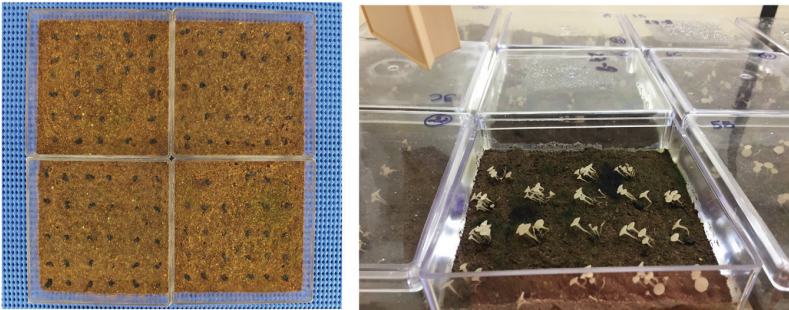
Las evaluaciones de viabilidad de los esclerocios se realizan en cajas acrílicas tipo Gerbox transparentes (11 x 11 x 3,5 cm) que contienen aproximadamente 200 g de suelo de ladera esterilizado en autoclave, humedecido hasta alcanzar el 90% de capacidad de campo. Se evalúan los 30 esclerocios de cada muestra (120 esclerocios por tratamiento).

En cada caja Gerbox, los esclerocios se disponen en un patrón de 6 x 5 sobre la superficie del suelo, aplicando una ligera presión para acomodarlos y mantener la misma posición (Figura 5). No se hace ningún tipo de asepsia de los esclerocios, pero las cajas deben cubrirse con las tapas adecuadas. Se deben evitar las tapas rayadas o con fondos mate ya que la formación de apotecios requiere de luz. Luego, las cajas Gerbox son incubadas en cámaras climáticas a una temperatura de 19 °C ( $\pm 2$  °C) y un fotoperiodo de 12 horas (dos lámparas fluorescentes blancas de 20W o LED de 9W y una lámpara de luz negra de 15W). Es importante estandarizar la iluminación en el ambiente de incubación, para que todas las cajas con esclerocios reciban la misma intensidad de luz. Esta estandarización se puede hacer usando en lámparas con el mismo tiempo de uso y las lámparas fluorescentes blancas se pueden reemplazar por lámparas LED. La germinación carpogénica debe iniciarse en un período de 20 a 30 días con la formación de estipes y los apotecios normalmente a los 40 días, cuando se deben realizar las lecturas (Figura 6).

### Parámetros evaluados:

- Porcentaje de germinación carpogénica (esclerocios con apotecios o estipes);
- Porcentaje de esclerocios colonizados por *Trichoderma* spp. (evaluación visual);
- Porcentaje de esclerocios no viables (podridos) - apretar con pinzas para evaluar si están intactos (firmes) o podridos (blandos). Considere los podridos como inviables.

Fotos: Mauricio Contrato Meyer



**Figura 5.** Acondicionamiento de los esclerocios en cajas Gerbox con suelo humedecido al 90% de la capacidad de campo, incubados a 19°C ( $\pm 2$ °C) y fotoperiodo de 12 horas.



**Figura 6.** Aspectos del análisis de viabilidad de esclerocios sanos (a la izquierda de la línea roja) y colonizados por agentes de biocontrol (a la derecha de la línea roja).

### Germinación micelológica

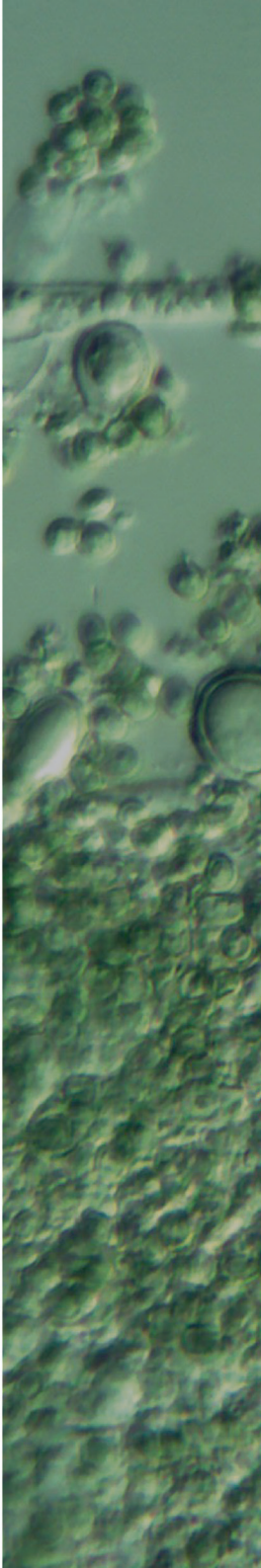
Desde 2015, la evaluación de la capacidad de germinación micelológica de los esclerocios ya no se realiza en ensayos cooperativos de control biológico de la pudrición blanca en soja, ya que los resultados indican constantemente que no hay reducción en este tipo de germinación como resultado de tratamientos con biofungicidas. Este hecho revela la existencia de un mínimo de reserva en los esclerocios que, aun estando parasitados por *Trichoderma* spp., es suficiente para generar micelio de *S. sclerotiorum*. Esto comprueba que la germinación del micelio tiene poca importancia epidemiológica en el cultivo de soja.

Para las evaluaciones de germinación micelológica son utilizados 20 esclerocios por muestra (80 esclerocios por tratamiento), no desinfectados para así no interferir en la evaluación de la incidencia de *Trichoderma* spp. Posteriormente, los esclerocios son colocados en cajas Petri (cinco esclerocios por caja), que contienen medio de cultivo PDA modificado a una concentración reducida de 1/3 de los ingredientes papa y dextrosa, acidificado con ácido láctico hasta un pH 4,0 (PDA pobre acidificado). Se añaden 250  $\mu$ l de dispersante Triton y 0,2 g de antibiótico oxitetraciclina (puede sustituirse por estreptomycin) por litro de medio aún sin solidificar. Las placas con los esclerocios son incubadas a 23 °C en ausencia de luz y la primera y segunda evaluación son hechas a los 5 y 10 días después del inicio de la incubación.

La germinación miceliogénica de los esclerocios se expresa en porcentaje de esclerocios que generaron micelio de *S. sclerotiorum*. También es posible evaluar el porcentaje de esclerocios colonizados por *Trichoderma* spp. y la integridad de los esclerocios (% de esclerocios no viables).

## Referencias

- AGROFIT: consulta abierta. Brasília, DF: Mapa, c 2003. Disponible en: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agro\\_fit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons)>. Acceso en: abr. 2019.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, p. 93-108, 1994.
- GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; CASSEMIRO, T. A. produção de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em meio de cultura. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 1-7, ene/feb. 2012.
- GHAZANFAR, M. U.; RAZA, M.; RAZA, W.; QAMAR, M. I. *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: a review. **Plant Protection**, v. 2, n. 3, p. 109-135, 2018.
- JACCOUD FILHO, D. S.; NASSER, L. C. B.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; JULIATTI, F. C. Mofa-branco: introdução, histórico, situação atual e perspectivas. In: JACCOUD FILHO, D. S.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G. (Eds.). **Mofa-branco**. Ponta Grossa: Todapalavra, 2017. p. 29-73.
- LOBO JUNIOR, M.; LOPES, C. A.; SILVA, W. L. C. Sclerotinia rot losses in processing tomatoes grown under centre pivot irrigation in central Brazil. **Plant Pathology**, v. 49, p. 51-56, 2000.
- LOBO JUNIOR, M.; SILVA-ABUD, L. L. S.; SANTOS-GOULART, P. E.; MACEDO, R.; TOLEDO-SOUZA, E. D. Panorama da pesquisa com patógenos radiculares no Brasil. In: LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. (Ed.). **Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2018. p. 17-34.
- MEYER, M. C.; FERREIRA, L. C.; BAYLÃO, B. S. G.; COSTA, N. B.; GUERZONI, R. A.; PIMENTA, C. B.; NUNES JÚNIOR, J.; VENANCIO, W. S. Influência do nível de água no solo sobre a germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 35 p. S153, 2010. Suplemento.
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M. (Eds.). **Ensaíos cooperativos de controle biológico de mofa branco na cultura da soja - safras 2012 a 2015**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 46 p. (Embrapa Soja, Documentos, 368).
- PELTIER, A. J.; BRADLEY, C. A.; CHILVERS, M. I.; MALVICK, D. K.; MUELLER, D. S.; WISE, K. A.; ESKER, P. D. Biology, yield loss and control of Sclerotinia Stem Rot of Soybean. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 3, n. 2, p. B1-B7, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1603/IPM11033>.



# PARTE IV

## APLICACIONES



# Uso de *Trichoderma* en el cultivo de arroz

*Gisele Barata da Silva*

*Marcela Cristiane Ferreira Rêgo*

*Suenny Kelly Santos de França*

*Thatyane Pereira de Sousa*

*Adriano Stephan Nascente*

*Anna Cristina Lanna*

*Marta Cristina Corsi de Filippi*

*Alan Carlos Alves de Souza*

*Gustavo Bezerra Andrade*

## Introducción

El arroz es uno de los alimentos más importantes del mundo, ya que es la principal fuente de alimentación de la mitad de la población mundial y es responsable del 25% al 80% del aporte calórico diario; por lo tanto, es considerado un cultivo esencial para la seguridad alimentaria (Walter et al., 2008; Serraj et al., 2009). Desde el punto de vista agronómico, la especie *Oryza sativa* es la especie cultivada más exitosa (Ouko, 2003), que está incluida en las subespecies *indica* y *japonica*, las cuales se diferencian por la adaptación a diferentes factores ambientales, como fotoperiodo y condiciones de humedad y temperatura (Chen et al., 2002). Tras muchos años de mejoramiento genético, actualmente existe una diversidad de genotipos adaptados a diferentes regímenes hídricos (Degenkolbe et al., 2013; Terra et al., 2013), lo que dio como resultado la clasificación de tres tipos principales de ecosistemas para su cultivo: riego por inundación con control de la lámina de agua, riego por inundación sin control de la lámina de agua y tierras altas con o sin riego, con una representación del 75% , 19% y 4% de la producción de arroz, respectivamente, con un área total cultivada de 150 millones de hectáreas en todo el mundo (Kikuta et al., 2016).

En Brasil, la mayoría de los cultivos de arroz de secano se encuentran en las regiones del Cerrado, localizados principalmente en los estados de Mato Grosso, Goiás, Tocantins, Roraima, Pará y Maranhão (Guimarães et al., 2006; Oliveira Neto, 2015). Entre 2006 y 2016, el arroz de secano redujo su área de cultivo en un 65% (de 1.613.894 a 563.941 hectáreas) y su producción en un 62% (de 2.835.877 a 1.091.343 toneladas); sin embargo, aumentó los rendimientos en 10% (de 1.757 a 1.935 kg ha<sup>-1</sup>). En cuanto al arroz bajo riego, los estados de Rio Grande do Sul y Santa Catarina son los principales productores, pero también hay áreas de cultivo en Tocantins. Entre 2006 y 2016, el arroz bajo riego aumentó su superficie en 4% (de 1.319.274 a 1.375.129 hectáreas); producción al 11% (de 8.597.497 a 9.550.454 toneladas) y productividad al 6,5% (de 6.517 a 6.945 kg ha<sup>-1</sup>) (Embrapa Arroz y Frijol, 2015).

### **Enfermedades en el cultivo de arroz**

En todas las etapas de desarrollo del cultivo, las plantas de arroz están sujetas al ataque de enfermedades que reducen la productividad y calidad de los granos. La prevalencia y severidad de las enfermedades dependen de la presencia de un patógeno virulento, un ambiente favorable y la susceptibilidad del cultivar. Existen más de 80 enfermedades causadas por patógenos, registradas en diferentes países. En Brasil, el número exacto de enfermedades del arroz aún no está definido y algunas de ellas, las cuales ocurren en menor escala, no han sido reportadas.

Entre las enfermedades que se presentan en el arroz, el añublo del arroz, causado por *Magnaporthe oryzae*, destaca por la complejidad en la biología del patógeno, caracterizada por la variabilidad natural observada en las poblaciones del patógeno y por la rapidez con que se adapta a una planta hospedante resistente. Los cultivares de arroz genéticamente mejorados para la resistencia a *M. oryzae* sucumben rápidamente a las razas del patógeno, que anteriormente tenían una frecuencia baja. El cultivo de arroz en grandes áreas bajo condiciones de alta presión requiere la inserción de agentes biológicos en el manejo. Los agentes biológicos ejercen múltiples funciones, como promover el crecimiento, inducir resistencia y ejercer una acción antagonista contra los fitopatógenos. Los agentes biológicos, a diferencia de la mayoría de las moléculas de plaguicidas químicos, tienen diferentes modos de acción, con distintas funciones que actúan en sinergia, dificultando la aparición de aislados resistentes en una población de fitopatógenos, además de contribuir con el manejo de la resistencia de las enfermedades a los fungicidas.

Otra enfermedad de importancia económica para el arroz es el añublo de la vaina, causado por *Rhizoctonia solani*, que representa uno de los factores limitantes en la producción de arroz. La dificultad para controlar la enfermedad radica en la capacidad que tiene el patógeno de formar esclerocios, su amplia gama de plantas hospedantes y la falta de cultivares resistentes en el cultivo de arroz. El control de la enfermedad requiere la aplicación de fungicidas foliares,



lo que aumenta el costo de producción, además de causar preocupación ambiental (Prabhu et al 2002; Araújo et al., 2006).

### **Control biológico y enfermedades del arroz**

El uso de agentes de biocontrol puede ser una alternativa viable para hacer más equilibrado el manejo fitosanitario del cultivo de arroz y favorecer la reducción del uso de insumos agroquímicos, principalmente para el control de plagas y enfermedades. Entre los agentes de biocontrol se destaca el hongo del género *Trichoderma*, el cual ha sido utilizado como ingrediente activo en varios productos agrícolas comercializados a nivel mundial (Woo et al., 2014), ya que produce múltiples efectos benéficos en las plantas (Harman et al., 2014), incluyendo la reducción del efecto de varios tipos de estrés abiótico y el biocontrol de enfermedades (Lorito; Woo, 2015).

Estudios de laboratorio y de campo relacionados con *Trichoderma* sp. en diferentes cultivos han demostrado una reducción de los síntomas causados por estreses abióticos, como deficiencia de agua, nutrientes y salinidad (Mastouri et al., 2012; Brotman et al., 2013; Sofó et al., 2014; Fiorentino et al., 2018), así como también, mejoras en el desarrollo de la planta, incremento en la tasa de emergencia de las plántulas, sistema radicular, brote, contenido de clorofila, productividad, tamaño y/o número de flores y/o frutos (Harman et al., 2004; Hermosa et al., 2012; Studholme et al., 2013; Mendoza-Mendoza et al., 2018). En particular, los cambios en el sistema radicular aumentan el área de absorción, favoreciendo la asimilación y translocación de nutrientes, lo que en consecuencia incrementa la biomasa vegetal (Samolski et al., 2012). El efecto promotor del crecimiento de las plantas también se atribuye al papel de *Trichoderma* sp. Sobre la solubilización de fosfatos y micronutrientes (Altomare et al., 1999), mediada por la liberación de sideróforos y metabolitos secundarios (Vinale et al., 2008; Spaepen, 2015), o por cambios en el contenido de etileno y auxina (Hermosa et al., 2013; Contreras-Cornejo et al., 2015) que estimulan el desarrollo de las plantas.

Como agente de control biológico, *Trichoderma* sp. produce una serie de metabolitos secundarios, parasita a otros hongos, compite con otros agentes fitopatógenos habitantes del suelo por el espacio y por los exudados liberados por las semillas y las raíces, pero también inhibe o degrada las pectinasas y otras enzimas, que, o bien son componentes esenciales de la pared celular de los hongos fitopatógenos o son compuestos importantes para inducir resistencia en las plantas (Shoresh et al., 2005; Vinale et al., 2008). La información adicional sobre los mecanismos de acción de *Trichoderma* sp. sobre los hongos fitopatógenos puede ser revisada en el Capítulo 4. En el control de enfermedades del arroz, el uso de *Trichoderma* spp. como agente biológico se ha mostrado eficiente, especialmente dentro de un programa de manejo integrado de enfermedades.



## Control biológico del añublo del arroz

En Brasil, se han realizado estudios en Embrapa Arroz y Frijol con el fin de caracterizar la interacción de *Trichoderma asperellum* y *M. oryzae*, en condiciones de laboratorio e invernadero. En condiciones de laboratorio, se demostró la producción de metabolitos volátiles y no volátiles y su termoestabilidad, además de la inhibición del crecimiento micelial y de la germinación conidial y formación de apresorios, la actividad de la quitinasa (CHI),  $\beta$  1-3 glucanasa (GLU) y proteasa (PRO), durante el cultivo conjunto de *T. asperellum* y *M. oryzae*, así como con cultivo de *T. asperellum* que contenía la pared celular de *M. oryzae* como sustrato. *T. asperellum* mostró potencial e inhibición del crecimiento micelial de *M. oryzae*.

La inhibición de la germinación de los conidios de *M. oryzae* puestos en contacto con conidios de *T. asperellum* fue verificada después de 4 a 6 horas (Sousa, 2018). Nguyen et al. (2016) encontraron que la germinación de esporas y la formación de apresorios fueron suprimidas totalmente con el uso del extracto fermentado de *Trichoderma* sp. aislado H921. Los mismos autores sugirieron que el extracto tiene algunas sustancias antifúngicas que podrían ser candidatos promisorios para el control del añublo de la hoja de arroz.

En condiciones de invernadero, en plantas de arroz del cultivar BRS-Primavera, se evaluó la supresión del añublo del arroz en dos experimentos: 1) aplicación simultánea de *M. oryzae* (suspensión de conidios) y la mezcla de cada uno de los aislados de *T. asperellum* UfraTO6, UfraTO9, UfraT12 y UfraT52 (suspensión de conidios o fermentados filtrados) y 2) aplicación curativa de la misma mezcla de aislados de *T. asperellum*. La aplicación de los aislamientos de *T. asperellum* UfraTO6, UfraTO9, UfraT12 y UfraT52, junto con la inoculación del patógeno, tanto en la suspensión de conidios como en el filtrado de cada aislamiento, fueron eficientes en suprimir el desarrollo del añublo de la hoja, diferenciándose significativamente al compararlos con el tratamiento testigo. La suspensión de conidios del aislado UfraT52 y el filtrado del aislado UfraT12 redujeron la severidad del añublo de la hoja en 94,7 y 93,5%, respectivamente. Al evaluar el control del añublo de la hoja en aplicación curativa, los aislados redujeron la severidad de la enfermedad, observándose la mayor reducción cuando las plantas fueron tratadas con el aislado UfraTO9 a las 24 y 48 h después de la inoculación de *M. oryzae*.

Desde el punto de vista bioquímico, al evaluar *T. asperellum* cultivado junto con *M. oryzae*, se detectó el aumento de la actividad de  $\beta$ -1,3-Glucanasa (GLU) y la disminución de la quitinasa (CHI). La mayor actividad de GLU y CHI se verificó a las 24h, cuando se cultivó *T. asperellum* en medio de cultivo junto con la pared celular del patógeno. Cuando *T. asperellum* y *M. oryzae* fueron transferidos simultáneamente al crecimiento en cultivo conjunto, la mayor actividad de GLU se observó a las 48 h, mientras que después de 72 h, todos los aislados mostraron una baja actividad enzimática de CHI. Los resultados *in vitro* evidenciaron el potencial de *T. asperellum* para competir, producir toxinas y enzimas líticas, frente a *M. oryzae*.

*Trichoderma* spp. producen una amplia variedad de metabolitos secundarios de bajo peso molecular que juegan un papel importante en la señalización durante la interacción con otros microorganismos (Vinale et al., 2008; Lorito et al., 2010; Mukherjee et al. 2012). Un paso importante en la investigación con *Trichoderma* spp. será la identificación de compuestos capaces de inhibir el crecimiento micelial, la germinación de conidios y la formación de apresorios en *M. oryzae*.

Además del control del añublo de la hoja, los autores Silva et al. (2012) y França et al. (2015) encontraron que los aislamientos de *T. asperellum* fueron eficientes para controlar el tizón de la vaina en invernaderos y en campo.

### **Control biológico del añublo de la vaina**

Estudios realizados por la Universidad Federal Rural de la Amazonia (UFRA) en los que se se evaluó el tratamiento de esclerocios de *R. solani* con los aislados de *T. asperellum* UfraTO6, UfraTO9, UfraT12 y UfraT52, demostraron la eficiencia en la reducción del crecimiento micelial del patógeno, sin embargo, *T. asperellum* no inhibió la germinación de los esclerocios. Los aislados de *T. asperellum* evaluados se consideraron altamente antagónicos, ya que redujeron el crecimiento micelial de *R. solani* hasta en un 75% por antagonismo directo y en un 35% por la producción de compuestos volátiles.

Al evaluar los sistemas de siembra en condiciones de campo se encontró que las plantas de arroz tratadas con una mezcla de los aislados de *T. asperellum* UfraTO6, UfraTO9, UfraT12 y UfraT52 mostraron mayor productividad en experimentos realizados con siembra directa y con trasplante. En el experimento realizado con siembra directa, el rendimiento fue mayor en el tratamiento con la mezcla de los cuatro aislados de *T. asperellum*, en comparación con los demás tratamientos, proporcionando un incremento de 34,3 % en el peso de 100 granos y de 41,4 % en el rendimiento de arroz con relación al tratamiento testigo. En el experimento con trasplante hubo un incremento en el tratamiento con la mezcla de los cuatro aislados de *T. asperellum* solo en relación con el testigo, siendo 18,5% en peso de 100 granos y 25,9% en la productividad. Estos datos demuestran el potencial de usar *T. asperellum* en el control biológico del añublo de la vaina causado por *R. solani*.

### **Promoción del crecimiento en plantas de arroz**

De acuerdo con la información disponible, *Trichoderma* spp. no son microorganismos endófitos frecuentemente asociados a las plantas de arroz. Aun así, se observa que, al interactuar con las plantas de arroz, existe una comunicación multicelular entre raíces y brotes, mediante la liberación de auxinas, péptidos, metabolitos volátiles y no volátiles, que favorecen la ramificación de la raíz y aumentan la absorción de nutrientes, aumentando el crecimiento y la producción de las plantas.

Investigaciones científicas sobre el rol de *Trichoderma* spp. como promotores del crecimiento del arroz fueron iniciadas en 2008 con la caracterización de 120 aislados del banco de aislados fúngicos de la UFRA. Los aislados fueron colectados en la Base de Petrobras en Urucu, municipio de Coari, Estado de Amazonas, en áreas nativas y áreas intervenidas para la explotación petrolera, en tierra firme. Durante la caracterización *in vitro* de esta colección, se destacaron cuatro aislados que fueron identificados como productores de fosfatasa, celulasa y AIA, en condiciones de laboratorio. En pruebas realizadas en condiciones de invernadero, las plantas de arroz, sembradas en macetas y tratadas con los aislados UfraT06, UfraT09, UfraT12, UfraT52, mostraron un incremento del 61% y 33% en la biomasa aérea y radical, respectivamente (Silva et al. 2012). Posteriormente, Sousa (2018) identificó los aislamientos como *T. asperellum*.

Con el fin de verificar los efectos de estos aislados seleccionados en condiciones de invernadero, França et al. (2015) realizaron dos ensayos en condiciones de tierras bajas tropicales inundadas naturalmente, durante dos temporadas consecutivas, uno en sistema de labranza cero (E1) y otro en sistema de trasplante (E2), utilizando el cultivar de arroz BRS Tropical. En E1, las semillas de arroz fueron tratadas con una mezcla de los aislados UfraT06, UfraT09, UfraT12, UfraT52, seguido de dos aplicaciones foliares. El uso de la mezcla de aislados de *T. asperellum* promovió un incremento del 13% en la longitud de las panículas, 46% en la masa de granos por panícula, 52% en el peso de 100 granos y 71% en la productividad. En el ensayo E2, las plantas que fueron asperjadas con la mezcla de los cuatro aislados mostraron un incremento en los parámetros de longitud de panícula de 11% y de 38% en el número de granos por panoja, 40% en el peso de semillas por panícula, 23% en el peso de 100 granos y 35% en productividad. Por lo tanto, se verificó que la mezcla de aislamientos de *T. asperellum* fue eficiente en el aumento de la productividad del arroz en llanuras aluviales tropicales cuando fue aplicado a través del tratamiento de semillas, seguido de aplicaciones foliares y puede constituir una alternativa para la producción orgánica y para la reducción del uso de insumos químicos.

### **Cambios histológicos y bioquímicos**

La caracterización de los cambios histológicos y bioquímicos resultantes de las interacciones entre *Trichoderma* sp y las plantas de arroz es importante para comprender los mecanismos y procesos involucrados en la interacción entre el microorganismo y la planta hospedante (Rêgo et al., 2014). *Trichoderma* spp. promueven cambios en las raíces de las plantas que provocan respuestas fisiológicas positivas y que pueden estar asociadas con cambios en las vías de señalización de fitohormonas, como el ácido indol-3-acético (IAA), lo que resulta en aumentos en la superficie, el número de raíces y pelos absorbentes. Mantelin; Touraine

(2004) sugieren que el incremento en el sistema radicular inducido por *T. asperellum* ocurre debido al aumento en la translocación de iones por estimulación de la enzima ATPasa y la bomba de protones. Las ganancias registradas en raíces de arroz, inducidas por el tratamiento con *T. asperellum*, son relevantes para los sistemas de producción de arroz de secano, ya que, en este sistema de cultivo, el desarrollo inicial de la planta es lento. Se cree que esta limitación es consecuencia de la baja eficiencia en la absorción de nitrógeno, en forma de  $\text{NO}^-$  y en forma de  $\text{NH}^+$  la eficiencia de absorción es mayor (Araújo, 2004). El nitrógeno influye en la formación de raíces en los tejidos meristemáticos de la zona de elongación de la raíz (Chen et al., 2013). Rego et al. (2014) identificaron y describieron los cambios morfoanatómicos en raíces de arroz cuando se trataron con una mezcla de aislamientos de *T. asperellum* UfraT06, UfraT09, UfraT12 y UfraT52. El incremento en longitud de raíz y peso seco fue de 57% y 56%, respectivamente, y el incremento en el diámetro de la raíz se inició a partir del día 15 después de la siembra, alcanzando un incremento de 30% en el día 21. Se verificó un aumento en el diámetro del cilindro vascular, en las áreas de lagunas del aerénquima, en el espesor del endodermo y exodermo, en los vasos conductores del protoxilema y en los elementos del vaso del metaxilema.

Nascente et al. (2017) evaluaron la aplicación de rizobacterias y mezcla de aislamientos de *T. asperellum* sobre arroz de secano en el cultivar BRS Primavera CL, y encontraron que las plantas de arroz tratadas con rizobacterias y los aislamientos de *T. asperellum*, Ufra T06, UfraT09, UfraT12 y UfraT52 mostraron, en promedio, los valores más altos de tasa fotosintética y biomasa de materia seca del brote, en comparación con el tratamiento de control.

### **Modulación de la expresión génica en plantas de arroz por *T. asperellum***

La interacción entre las plantas y *Trichoderma* sp. da como resultado una rápida inducción sistémica de genes relacionados con la defensa (Contreras-Cornejo et al., 2011; Salas-Marina et al., 2011). Durante la interacción benéfica *Trichoderma*-planta, la señalización está constituida por la expresión de genes relacionados con las vías de defensa del ácido jasmónico (JA)/etileno (ET) y/o ácido salicílico (SA) que pueden superponerse, dependiendo de la especie y concentración del aislado, así como de la etapa de desarrollo de la planta hospedante y también la duración de la interacción (Hermosa et al., 2012). Para el arroz, muchos autores han demostrado que los agentes biológicos, como las rizobacterias, pueden activar la respuesta de defensa, a través de vías de señalización hormonal y actividad de proteínas relacionadas con el estrés (Vleeschauwer et al., 2006, 2009; Chithrashree et al., 2011; Sousa et al., 2018).

Sin embargo, la comprensión de los mecanismos de defensa resultantes de la inducción de resistencia a enfermedades en arroz es aún incipiente (Vleeschauwer et al., 2009; Balmer

et al., 2013). Los autores encontraron que las plantas de arroz tratadas con *T. asperellum* + *M. oryzae* mostraron un aumento en la expresión del gen *LOX-RLL*, acompañado de una reducción en la severidad del añublo de la hoja, lo que indica que las vías inducidas por este gen conducen a un aumento de los mecanismos de defensa en plantas de arroz contra *M. oryzae*. El gen *LOX-RLL* está asociado principalmente con la vía del JA. El agente de biocontrol *T. asperellum* es referido en la literatura como un modulador de la expresión de genes de defensa, durante la interacción con una amplia gama de especies hospedantes, incluidas plantas monocotiledóneas (Contreras-Cornejo et al., 2011; Salas-Marina et al., 2011; Morán-Díez et al., 2009; Sharma et al., 2017).

### **Asociación de *T. asperellum* con silicato de calcio y magnesio y rizobacterias**

En el biocontrol de enfermedades, los agentes de control biológico asociados a la aplicación de silicio actúan en diferentes mecanismos de resistencia a patógenos. Los hongos promotores del crecimiento del género *Trichoderma* activan mecanismos responsables de la competencia por nutrientes y antibiosis a fitopatógenos, a través de la producción de sustancias antimicrobianas, como fitoalexinas y proteínas relacionadas con la patogénesis (PRP) (Brotman et al., 2010; Ramamoorthy et al., 2001), lo que resulta en la inducción de resistencia sistémica (SRI) (Van Loon; Pieterse, 2006; Van Loon, 2007). El silicio ha sido considerado un elemento eficaz para la protección de las plantas contra plagas y enfermedades en muchas especies, incluido el arroz (Prabhu et al., 2001). Hasta el momento, los resultados indican que su efecto protector proviene de la absorción radicular del ácido monosilícico y la deposición en forma de sílice amorfa en la pared celular de las plantas de arroz (Yoshida, 1965).

Sousa et al. (2018) encontraron que la severidad del añublo de la hoja fue menor en el tratamiento consistente en semillas de arroz microbiolizadas con una mezcla de los aislados de *T. asperellum* UfraTO6, UfraTO9, UfraT12 y UfraT52, seguido de la aspersión foliar con *Pseudomonas fluorescens*, aislado BRM 32111. El ensayo se instaló en suelo previamente fertilizado con 2,0 t SiCaMg.ha<sup>-1</sup>. En la literatura existen algunos reportes sobre el rol del silicio y los agentes de biocontrol en el sistema de defensa bioquímica de las plantas de arroz (Rodrigues; Datnoff, 2005; Silva et al., 2011; Datnoff, 2012). Los tratamientos que contenían plantas tratadas con una mezcla de *T. asperellum* y fertilizadas antes de la siembra con 2,0 t SiCaMg.ha<sup>-1</sup> mostraron un aumento en la actividad de CHI, GLU, POX (peroxidasa), FAL (fenilalanina amoniaco liasa) y en el contenido de AS, incluso en ausencia de *M. oryzae* (Cortes et al., 2015), corroborando los resultados de Cruz et al. (2013), quienes observaron un aumento de la actividad enzimática de FAL, CHI, GLU y polifenoloxidasas en plantas de soja fertilizadas con silicato de calcio, en ausencia de *Phakopsora pachyrhizi*. Después de 48 horas

de exposición a *M. oryzae*, se observó el efecto del silicio sobre el aumento de la actividad de CHI y GLU, al ser aplicado en combinación con agentes de biocontrol.

Se verificó un aumento significativo de materia seca de la raíz (194%) y hoja (189%) en plantas de arroz tratadas tanto con fertilización con silicatos y bioagentes en comparación con las plantas de control.

De acuerdo con los autores, con el uso combinado de microorganismos y la fertilización a base de silicato de calcio y magnesio se verificó una reducción en la severidad del añublo en hojas y panículas en condiciones de campo, además de una reducción en la incidencia del añublo en panículas, un aumento en el crecimiento en biomasa, número de macollas y en la productividad de arroz (Souza, 2018).

### Consideraciones finales

El uso de agentes de biocontrol, especialmente *T. asperellum*, muestra un potencial de uso en el cultivo de arroz sembrado tanto bajo sistemas de riego, bajo inundación y en seco. Los datos de investigaciones realizadas en el Brasil demuestran su efecto benéfico en el manejo de enfermedades como el añublo (*M. oryzae*) y el tizón de la vaina (*R. solani*), por antagonismo y por inducción de resistencia, además de promover el crecimiento y aumentar la productividad en el cultivo de arroz.

Además, los estudios con la combinación de *T. asperellum* y la fertilización con silicato de calcio y magnesio han mostrado resultados prometedores en diferentes condiciones de cultivo, lo que también puede ser una posibilidad para mejorar el manejo de la enfermedad.

Esclarecer el papel benéfico que *Trichoderma* spp. ejerce en las interacciones entre plantas y patógenos es la desafiante misión de la investigación científica. Por lo tanto, las investigaciones deben continuar con el objetivo de dilucidar la compleja interacción entre la planta de arroz y *Trichoderma* spp., que resulta en la promoción del crecimiento, la supresión de enfermedades, la inducción de resistencia y el aumento del potencial productivo.

## Referencias

- ALTMORE, 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**, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.
- ARAÚJO, J. L. **Atividade da redutase do nitrato sobre o crescimento e a produção de arroz**. 2004. 62 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- ARAÚJO, L. G.; PRABHU, A. S.; SILVA, G. B. Método de perflhos únicos para estimar os danos causados pela queima-da-bainha nos componentes de produtividade do arroz. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 199-202, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582006000200014>.
- BALMER, D.; PLANCHAMP, C.; MAUCH-MANI, B. On the move: induced resistance in monocots. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 5, p. 1249-1261, 2013. DOI: [10.1093/jxb/ers248](https://doi.org/10.1093/jxb/ers248).
- BROTMAN, Y.; GUPTA, J. K.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v. 20, n. 9, p. 390-391, 2010. BROTMAN, Y.; LANDAU, U.; CUADROS-INOSTROZA, Á.; TOHGE, T.; FERNIE, A. R.; CHET, I.; VITERBO, A.; WILLMITZER, L. *Trichoderma*-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. **PLoS Pathogens**, v. 9, n. 4, e1003221, 2013. DOI: [10.1371/journal.ppat.1003221](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003221).
- CHEN, G.; GUO, S.; KRONZUCKER, H. J.; SHI, W. Nitrogen use efficiency (NUE) in rice links to toxicity and futile NH<sub>4</sub> cycling in roots. **Plant and Soil**, v. 369, n. 1-2, p. 351-363, 2013.
- CHENG, C.; MOTOHASHI, R.; TSUCHIMOTO, S.; FUKUTA, Y.; OHTSUBO, H.; OHTSUBO, E. Polyphyletic origin of cultivated rice: based on the interspersed pattern of SINEs. **Molecular Biology and Evolution**, v. 20, n. 1, p. 67-75, 2002. DOI: [10.1093/molbev/msg004](https://doi.org/10.1093/molbev/msg004).
- CHITHRASHREE, A. C.; UDAYASHANKAR, S.; CHANDRA, N. S.; REDDY, M. S.; SRINIVAS, C. Plant growth-promoting rhizobacteria mediate induced systemic resistance in rice against bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. **Biological Control**, v. 59, n. 2, p. 114-122, 2011. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2011.06.010](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.06.010).
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; LÓPEZ-UCIO, J. S.; MÉNDEZ-BRAVO, A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; RAMOS-VEGA, M.; GUEVARA-GARCÍA, Á. A.; LÓPEZ-UCIO, J. Mitogen-activated protein kinase 6 and ethylene and auxin signaling pathways are involved in *Arabidopsis* root-system architecture alterations by *Trichoderma atroviride*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 28, n. 6, p. 701-710, 2015. DOI: [10.1094/MPMI-01-15-0005-R](https://doi.org/10.1094/MPMI-01-15-0005-R). CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; BELTRÁN-PENA, E.; HERRERA-ESTRELLA, A.; LÓPEZ-UCIO, J. *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal and camalexin-dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungi *Botrytis cinerea*. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 10, p. 1554-1563, 2011. DOI: [10.4161/psb.6.10.17443](https://doi.org/10.4161/psb.6.10.17443).
- CORTES, A. C. A.; SOUZA, M. V. de B.; SILVA, G. B. da; SOUSA, T. P. de; RODRIGUES, F. A.; FILIPPI, M. C. C. Enzyme-induced defense response in the suppression of rice leaf blast (*Magnaporthe oryzae*) by silicon fertilization and bioagents. **International Journal of Research Studies in Biosciences**, v. 3, n. 5, p. 22-32, 2015.
- CRUZ, M. F. A.; RODRIGUES, F. A.; POLANCO, L. R.; CURVÉLO, C. R. S.; NASCIMENTO, K. J. T.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Inducers of resistance and silicone on the activity of defense enzymes in the soybean-*Phakopsora pachyrhizii* interaction. **Bragantia**, v. 72, n. 2, p. 162-172, 2013.
- DATNOFF, L. E. Differential gene expression of rice in response to silicon and infection by *Magnaporthe oryzae*. In: RODRIGUES, F. A.; FORTUNATO, A. A.; RESENDE, R. S. (Ed.). **Indução de resistência a patógenos**. Viçosa, MG: UFV, 2012. p. 227-238.
- DEGENKOLBE, T.; DO, P. T.; KOPKA, J.; ZUTHER, E.; HINCHA, D. K.; HÖHL, K. I. Identification of drought tolerance markers in a diverse population of rice cultivars by expression and metabolite profiling. **Plos One**, v. 8, n. 5, e63637, 2013. DOI: [10.1371/journal.pone.0063637](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063637).
- EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Bases de dados conjunturais de arroz e feijão**: série histórica de 1985 a 2018. Santo Antonio de Goiás, 2015. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>>. Acesso em: 21 fev. 2019.
- FIorentino, N.; VENTORINO, V.; WOO, S. L.; PEPE, O.; DE ROSA, A.; GIOIA, L.; ROMANO, I.; LOMBARDI, N.; NAPOLITANO, M.; COLA, G.; ROUPHAEL, Y. *Trichoderma*-based biostimulants modulate rhizosphere microbial populations and improve N uptake efficiency, yield, and nutritional quality of leafy vegetables. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 743, 2018. DOI: [10.3389/fpls.2018.00743](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00743).
- FRANÇA, S. K. S.; CARDOSO, A. F.; LUSTOSA, D. C.; RAMOS, E. M. L. S.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Biocontrol of sheath blight by *Trichoderma asperellum* in tropical lowland rice. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 1, p. 317-324, 2015. DOI: [10.1007/s13593-014-0244-3](https://doi.org/10.1007/s13593-014-0244-3).
- GUIMARÃES, C. M.; SANTOS, A. B. dos; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. de; STONE, L. F. Sistemas de cultivo. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. de A. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. p. 53-96.



- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004. DOI: 10.1038/nrmicro797.
- HERMOSA, R.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 69-80, 2013. DOI: 10.2436/20.1501.01.181.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012. DOI: 10.1099/mic.0.052274-0.
- KIKUTA, M.; YAMAMOTTO, Y.; PASOLON, Y. B.; REMBON, F. S.; MIYAZAK, A.; MAKIHARA, D. How growth and yield of upland rice vary with topographic conditions: a case of Slash-and-burn rice farming in South Konawe Regency, Southeast Sulawesi Province, Indonesia. **Tropical Agriculture and Development**, v. 60, n. 3, p. 162-171, 2016. DOI: 10.11248/jsta.60.162.
- LORITO, M.; WOO, S. L. *Trichoderma*: a multi-purpose tool for integrated pest management. In: LUGTENBERG, B. (Ed.). **Principles of plant-microbe interactions: microbes for sustainable agriculture**. New Delhi: Springer, 2015. p. 345-353. DOI: 10.1007/978-3-319-08575-3.
- LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 395-418, 2010. DOI: 10.1146/annurev-phyto-073009-114314.
- MANTELIN, S.; TOURAINE, B. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 394, p. 27-34, 2004.
- MASTOURI, F.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012. DOI: 10.1094/MPMI-09-11-0240.
- MENDOZA-MENDOZA, A.; ZAID, R.; LAWRY, R.; HERMOSA, R.; MONTE, E.; HORWITZ, B. A.; MUKHERJEE, P. K. Molecular dialogues between *Trichoderma* and roots: role of the fungal secretome. **Fungal Biology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 62-85, 2018. DOI: 10.1016/j.fbr.2017.12.001.
- MORÁN-DIEZ, E.; HERMOSA, R.; AMBROSINO, P.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; LORITO, M.; MONTE, E. The ThPG1 endopolylacturonase is required for the *Trichoderma harzianum*-plant beneficial interaction. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 8, p. 1021-1031, 2009. DOI: 10.1094/MPMI-22-8-1021.
- MUKHERJEE, M.; MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; ZACHOW, C.; BERG, G.; ZEILINGER, S. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions: advances in genetics of biological control. **Indian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 522-529, 2012. DOI: 10.1007/s12088-012-0308-5.
- NASCENTE, A. S.; FILIPPI, M. C. C. de; LANNA, A. C.; SOUZA, A. C. A.; LOBO, V. L. S.; SILVA, G. B. Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 3, p. 2956-2965, 2017. DOI: 10.1007/s11356-016-8013-2.
- NGUYEN, Q. T.; UEDA, K.; KIHARA, J.; UENO, M. Culture filtrates of *Trichoderma* isolate H921 inhibit *Magnaporthe oryzae* spore germination and blast lesion formation in rice. **Advances in Microbiology**, v. 6, p. 521-527, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/aim.2016.67052>.
- OLIVEIRA NETO, A. A. (Org.). **A cultura do arroz**. Brasília, DF: CONAB, 2015. 179 p.
- OUKO, M. O. **Nitrate reductase activity in rice as a screening tool for weed competitiveness**. 2003. 73 p. Thesis (Masters of Agriculture) - University of Bonn, Bonn.
- PRABHU, A. S.; BARBOSA FILHO, M. P.; FILIPPI, M. C.; DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H. Silicon from disease control perspective in Brazil. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 293-311.
- PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C.; SILVA, G. B.; SANTOS, G. R. Resistência de cultivares de arroz a *Rhizoctonia solani* e *Rhizoctonia oryzae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 589-595, 2002. DOI: 10.1590/S0100-204X2002000500003.
- RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRACKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, n. 1, p. 1-11, 2001. DOI: 10.1016/S0261-2194(00)00056-9.
- RÊGO, M. C. F.; ILKIU-BORGES, F.; FILIPPI, M. C. C.; GONÇALVES, L. A.; SILVA, G. B. Morphoanatomical and Biochemical Changes in the Roots of Rice Plants Induced by Plant Growth-Promoting Microorganisms. **Journal of Botany**, v. 2014, article ID 818797, 2014. 10 p. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/818797>.



- RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon and rice disease management. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 457-469, 2005.
- SALAS-MARINA, M. A.; SILVA-FLORES, M. A.; URESTI-RIVERA, E. E.; CASTRO- LONGORIA, E.; HERRERA-ESTRELLA, A.; CASAS-FLORES, S. Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ ethylene and salicylic acid pathways. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, n. 1, p. 15-26, 2011. DOI: 10.1007/s10658-011-9782-6.
- SAMOLSKI, I.; RINCÓN, A. M.; PINZÓN, L. M.; VITERBO, A.; MONTE, E. The qid74 gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 129-138, 2012. DOI: 10.1099/mic.0.053140-0.
- SERRAJ, R.; KUMAR, A.; MCNALLY, K. L.; SLAMET-LOEDIN, I.; BRUSKIEWICH, R.; MAULEON, R.; CAIRNS, J.; HIJMANS, R. J. Improvement of drought resistance in rice. **Advances in Agronomy**, v. 103, p. 41-99, 2009. DOI: 10.1016/S0065-2113(09)03002-8.
- SHARMA, V.; SALWAN, R.; SHARMA, P.; GULATI, A. Integrated translome and proteome: approach for accurate portraying of wide- spread multifunctional aspects of *Trichoderma*. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, article 1602, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01602.
- SHORESH, M.; YEDIDIA, I.; CHET, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. **Phytopathology**, v. 95, n. 1, p. 76-84, 2005. DOI: 10.1094/PHYTO-95-0076.
- SILVA, J. C.; TORRES, D. B.; LUSTOSA, D. C.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Rice sheath blight biocontrol and growth promotion by *Trichoderma* isolates from the Amazon. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 55, n. 4, p. 243-250, 2012. DOI: 10.4322/rca.2012.0.
- SILVA, V. N.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, dez. 2011. DOI: 10.1590/S0100- 204X2011001200005.
- SOFO, A.; NUZZACI, M.; VITTI, A.; TATARANNI, G.; SCOPA, A. Control of biotic and abiotic stresses in cultivated plants by the use of biostimulant microorganisms. In: AHMAD, P.; WANI, M.; AZOOZ, M.; TRAN, L. S. (Eds). **Improvement of crops in the era of climatic changes**. New York: Springer, 2014. p. 107-117. DOI: 10.1007/978-1-4614-8830-9\_5.
- SOUSA, T. P. **Characterization of interaction between *Trichoderma asperellum*, *Magnaporthe oryzae* and *Oryza sativa***. 2018. 127 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Fitossanidade) - Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.
- SOUSA, T. P. de; SOUZA, A. C. A. de; FILIPPI, M. C. C. de; LANNA, A. C.; CORTES, M. V.; PINHEIRO, H. A.; SILVA, G. B. da. Bioagents and silicon promoting fast early upland rice growth. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 4, p. 3657-3668, 2018. DOI: 10.1007/s11356-017-0753-0.
- SPAEPEN, S. Plant hormones produced by microbes. In: LUGTENBERG, B. (Ed.). **Principles of plant-microbe interactions: microbes for sustainable agriculture**. New Delhi: Springer, 2015. p. 247-256. DOI: 10.1007/978-3-319-08575-3\_26.
- STUDHOLME, D. J.; HARRIS, B. D.; LE COCQ, K.; WINSBURY, R.; PERERA, V.; RYDER, L. S.; WARD, J. L.; BEALE, M. H.; THORNTON, C. R.; GRANT, M. Investigating the beneficial traits of *Trichoderma hamatum* GD12 for sustainable agriculture-insights from genomics. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, article 258, 2013. DOI: 10.3389/fpls.2013.00258.
- TERRA, T. G. R.; LEAL, T. C. A. B.; BORÉM, A.; RANGEL, H. N. R. Tolerância de linhagens de arroz de terras altas à seca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 2, p. 201-208, 2013.
- VAN LOON, L. C. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. **European Journal of Plant Pathology**, v. 119, n. 3, p. 243-254, 2007. DOI: 10.1007/s10658-007-9165-1.
- VAN LOON, L. C.; PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, p. 35-62, 2006. DOI: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425.
- VLEESSCHAUWER, D.; CORNELIS, P.; HOFTE, M. Differential effectiveness of *Serratia plymuthica* IC1270-induced systemic resistance against hemibiotrophic and necrotrophic leaf pathogens in rice. **BMC Plant Biology**, v. 9, n. 9, p. 1-16, 2009. DOI: 10.1186/1471-2229-9-9.
- VLEESSCHAUWER, D.; CORNELIS, P.; HOFTE, M. Redox-active pyocyanin secreted by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 triggers systemic resistance to *Magnaporthe grisea* but enhances *Rhizoctonia solani* susceptibility in rice. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 19, n. 12, p. 1406-1419, 2006. DOI: 10.1094/MPMI-19-1406.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITTO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008. DOI: 10.1016/j.soilbio.2007.07.002.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p. 1184-1192, 2008. DOI: 10.1590/S0103-84782008000400049.

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. Trichoderma-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014. DOI: 10.2174/1874437001408010071.

YOSHIDA, S. Chemical aspects of the role of silicone in physiology of the rice plant. **Bulletin of the National Institute of Agricultural Science**, v. 15, p. 1-58, 1965.



# Uso de *Trichoderma* en el cultivo de algodón

*Nelson Dias Suassuna*

*Juliano Cesar da Silva*

*Wagner Bettiol*

## Introducción

El algodón (*Gossypium hirsutum* L. *latifolium* Hutch) se cultiva en la sabana brasileña desde principios de la década de 1980, principalmente debido al desarrollo y lanzamiento de cultivares con mayor rendimiento de fibra y adaptación a este ecosistema. Este hecho también se debe a las mejoras en el sistema de producción de cultivos, que aseguran una alta productividad de fibra, proporcionando competitividad al algodón brasileño en el mercado internacional (Morello et al., 2015; Silva Neto et al., 2016; Barroso et al., 2017; Suassuna et al., 2018). Actualmente, con más del 90% de las áreas cultivadas en este bioma, el cultivo está sujeto a una alta presión por estrés biótico, especialmente daños causados por plagas, enfermedades y competencia por malezas. El sistema de producción actual, basado en extensas áreas cultivadas con pocos cultivares, muchos de los cuales son susceptibles a más de un patógeno, conduce al agravamiento del problema de enfermedades que antes no eran consideradas importantes, además de permitir brotes epidémicos de nuevas enfermedades, lo que lleva a un aumento sistemático del uso de fungicidas químicos.

Las principales enfermedades en el cultivo de algodón en Brasil pueden ser causadas por hongos, nematodos, bacterias o virus que se desarrollan y multiplican en los tejidos vegetales provocando una reducción tanto en la productividad como en la calidad de la fibra y, en ocasiones, puede ocasionar la muerte de la planta. En este capítulo se discutirán las enfermedades que afectan semillas, plántulas y plantas, con énfasis en los

hongos que pueden ser controlados con el uso de especies del género *Trichoderma* como componente de manejo.

### **Características del género *Trichoderma***

Las especies de hongos del género *Trichoderma* exhiben una amplia gama de estilos de vida e interacciones con otros hongos, animales y plantas (Druzhinina et al., 2011; Kubicek et al., 2011; Rubio et al., 2017; Druzhinina et al., 2018). Debido a su capacidad antagonista con hongos fitopatógenos y además de estimular el crecimiento y la defensa de las plantas, algunos aislados de *Trichoderma* se utilizan para el control biológico de enfermedades de plantas, con una gran cantidad de productos comerciales (Baker, 1989; Bettiol et al., 2012; Woo et al., 2014). El éxito de *Trichoderma* como agente de biocontrol se debe a los diferentes mecanismos de acción contra los fitopatógenos, ya que presentan acción directa, entre ellos, el micoparasitismo, producción de compuestos antimicrobianos y enzimas, competencia por nutrientes y espacio (Harman et al., 2004); Kubicek et al., 2011; Hermosa et al., 2014), así como de la acción indirecta a través de la inducción de mecanismos de resistencia en la planta (Hermosa et al., 2012; Vos et al., 2015). Además, tienen la capacidad de promover el crecimiento de las plantas, con aumento de la productividad del cultivo, mayor absorción de nutrientes e inducción de resistencia a estreses abióticos (Baker, 1989; Harman et al., 2004; Hermosa et al., 2012; Hermosa et al., 2014; Rubio et al., 2017). Los detalles sobre los mecanismos de acción de *Trichoderma* como agente de control biológico se presentan en el Capítulo 3 de este libro, que trata exclusivamente de los mecanismos de acción de *Trichoderma*.

Las especies de *Trichoderma* también tienen la ventaja de no mostrar toxicidad a los humanos y los animales, son asequibles, su producción no depende de un recurso natural limitado y algunas pueden persistir en el suelo o en las plantas, sin necesidad de hacer nuevas aplicaciones.

Las especies de *Trichoderma* se han adaptado a varios ecosistemas, donde juegan un papel importante en la salud de los ecosistemas. Estos hongos son componentes predominantes de la microbiota tanto en suelos nativos como agrícolas. Además, pueden colonizar las raíces de las plantas, en algunos casos también colonizan la parte aérea y pueden desarrollarse como organismos endófitos (Guzmán-Guzmán et al., 2019).

La capacidad de las especies de *Trichoderma* para actuar como micoparásitos, sintetizar compuestos antibióticos y desarrollarse como saprófitos, las convierte en competidores efectivos tanto en el suelo como en la rizosfera de las plantas de algodón. En patógenos cuyas estructuras de supervivencia son susceptibles a la infección por *Trichoderma*, este micoparásito puede ser utilizado para reducir el potencial de inóculo del patógeno en el suelo. Otra característica importante de las especies de *Trichoderma* que posibilita su uso como agentes eficientes

para el biocontrol de enfermedades de plantas es la facilidad de ser cultivadas, almacenadas y aplicadas adecuadamente como tratamiento de semillas o directamente en el suelo (Howell, 2007). Los biofungicidas controlan eficazmente las enfermedades de las plantas y son seguros para el medio ambiente. Aunque el uso se expande anualmente, la adopción por parte de los productores en Brasil sigue siendo limitada (Bettiol, 2011). Sin embargo, el uso del control biológico en la agricultura a nivel mundial está creciendo alrededor de 17%. En Brasil, la Asociación Brasileña de Empresas de Control Biológico (ABC BIO) estimó un crecimiento del 70% en el mercado de control biológico en 2018 (Mercado..., 2019).

## Control de enfermedades del algodón

### *Damping-off* en plántulas

El mal de almaciguera o *damping-off* en plántulas de algodón puede causar daños graves al establecimiento del cultivo, principalmente por los efectos en la reducción del establecimiento. Esta enfermedad es causada por un complejo de hongos fitopatógenos, especialmente *Rhizoctonia solani* (forma anamórfica de *Thanatephorus cucumeris*), *Colletotrichum gossypii*, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae* (syn. *Botryodiplodia theobromae*), *Macrophomina phaseolina* [forma teleomórfica de *Rhizoctonia bataticola* (Syn. *Sclerotium bataticola*)], *Pythium ultimum*, *Thielaviopsis basicola* y algunas especies de los géneros *Ascochita* y *Fusarium* (Hillocks, 1992; Juliatti; Ruano, 1997). La importancia relativa de cada patógeno depende del tipo de suelo y de las condiciones ambientales después de la siembra.

Los síntomas del *damping-off* se observan poco después de la emergencia de las plántulas, en forma de lesiones irregulares y deprimidas de color marrón rojizo a marrón oscuro en el hipocótilo, cotiledones y en las hojas primarias de las plántulas; las cuales al rodear el hipocótilo, inducen el marchitamiento y muerte de la plántula. Los patógenos que causan el marchitamiento también pueden afectar la radícula y la plúmula de las plántulas en desarrollo, matándolas incluso antes de que emerjan. En estos casos, el único síntoma visible es la reducción del número de plantas sanas (Suassuna; Coutinho, 2014). Ambos síntomas son causados por la misma variedad de patógenos. Sin embargo, algunas especies de *Pythium* son los principales agentes causantes de la muerte de las plántulas de algodón antes de que emerjan del suelo. Por otra parte, *R. solani* es el principal agente etiológico del marchitamiento y muerte de las plántulas después de la emergencia (Hillocks, 1992).

Cuando las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de la enfermedad, es decir, temperaturas entre 18 °C y 30 °C y alta humedad del suelo, las pérdidas pueden ser importantes, y muchas veces es necesario volver a sembrar para obtener una población ideal de plantas por unidad de área (Belmer et al., 1966).

En general, el control del complejo de enfermedades de plántulas se realiza mediante el tratamiento de semillas con combinaciones de fungicidas, principalmente de los grupos de dicarboximidas, cloroaromáticos, dimetiltiocarbamatos, benzimidazoles, carboxanilidas, triazoles, fenilpirrol y fenilurea. Sin embargo, debido principalmente a la contaminación ambiental y de las aguas subterráneas, el uso de fungicidas está revisado con más detalle. Como vía alternativa o complementaria al control químico, el control biológico es una de las estrategias investigadas en una amplia variedad de cultivos. En cultivo de algodón, Elad et al. (1982) verificaron que *Trichoderma hamatum* y *Trichoderma harzianum* fueron eficientes en el control de *R. solani* en pruebas realizadas tanto en invernadero como en campo. En campo, la severidad se redujo entre 47 y 60% en dos experimentos. También Shanmugaiah et al. (2009) describieron que *Trichoderma viride*, además de controlar a *M. phaseolina* y *R. solani*, estimulaba el desarrollo del algodón.

El poder germinativo de las semillas de algodón puede ser afectado por condiciones ambientales desfavorables durante el almacenamiento, así como por la incidencia de hongos patógenos. Se reporta el uso de *Trichoderma* como bioprotectores a través de la microbiolización de semillas en cultivos de algodón (Shanmugaiah et al., 2009). Las semillas del cultivar CNPA ITA 90, que fueron previamente inmersas durante tres minutos en una suspensión de *T. harzianum* ( $1 \times 10^6$  conidios mL<sup>-1</sup>), mostraron velocidad de emergencia, materia seca y longitud de plántula similares a las semillas sometidas a dos tratamientos químicos diferentes. Además, las semillas tratadas con *Trichoderma* mostraron porcentajes de germinación y de plántulas infectadas a baja temperatura similares a lo observado en plantas tratadas químicamente (Faria et al., 2003). Por lo tanto, el proceso de microbiolización de semillas permitió una buena germinación y emergencia de plántulas de algodón y proporcionó una emergencia de plántulas más vigorosas.

El tipo de formulación y la forma de preparación y de aplicación del agente de biocontrol es fundamental para el éxito. Para controlar *R. solani* en un campo infestado artificialmente, se evaluaron tres formas de preparación de *Trichoderma* durante cuatro años sucesivos. La preparación del aislado de *T. hamatum* TRI-4 en salvado de trigo evitó significativamente el marchitamiento en el cultivo de algodón (cultivar Stoneville 213) y, en tres de los cuatro años de estudio, la población final de plantas fue similar a la población de plantas en parcelas no inoculadas con el patógeno (Lewis; Papavizas, 1991).

El uso aislado de un producto a base de *Trichoderma* puede tener un efecto limitado. Para el uso combinado de control biológico y químico, el agente de biocontrol debe tener resistencia al (los) fungicida (s) usados de forma simultánea o, de alguna manera, evitar el contacto con el producto químico. En algodón, se utilizó con éxito un aislado de *Trichoderma virens* en combinación con el fungicida metalaxil en el tratamiento de semillas, ya que el fungicida es

eficaz en el control de oomicetos y no tiene efecto sobre *Trichoderma* (Howell et al., 1997). Otra posibilidad es aplicar el agente de control biológico protegiéndolo del fungicida químico. Howel (2007) verificó que las semillas de algodón (cultivar Suregrow 747), previamente tratadas con fungicida, posteriormente recubiertas con polímero adhesivo de látex (modelo Rhoplex 15BJ, Rohm and Haas, Filadelfia, PA) y luego tratadas con *T. virens* aislado G-6, en forma de gránulos secados al aire, a razón de 0,1 g/g de semilla, estaban adecuadamente protegidos contra el *damping-off*. Este enfoque permitió el uso simultáneo de *Trichoderma* y fungicidas tóxicos a *T. virens*, ya que gran parte del principio activo del fungicida sistémico probablemente fue absorbido por la plántula en germinación, protegiéndola de la infección por *R. solani*, mientras que el agente de biocontrol se protegió de los efectos del fungicida remanente al recubrir la semilla con el polímero de látex. De esta manera, se logró el éxito en el control del *damping-off* tanto en preemergencia como en postemergencia (Howell, 2007). El marchitamiento observado en postemergencia (principalmente causado por *R. solani*) de las plántulas de algodón se puede controlar con éxito utilizando fungicidas sistémicos. Sin embargo, estos fungicidas son relativamente eficientes para controlar el marchitamiento en preemergencia y el control biológico aumenta la efectividad de control.

Concomitante con sus actividades micoparasitarias, *T. virens* también produce varios antibióticos. El antibiótico gliotoxina (Weindling, 1941), producido por las cepas “Q” de *T. virens*, tiene un amplio espectro de actividad contra bacterias, actinomicetos y hongos. Di Pietro et al. (1993) señalaron que la gliotoxina actúa sinérgicamente con la enzima quitinasa en las actividades antifúngicas de *T. virens*. El antibiótico gliovirina (Howell; Stipanovic, 1983), producido por cepas “P” de este hongo, aunque estrechamente relacionado con la gliotoxina, tiene un espectro de actividad mucho más estrecho y no es efectivo contra bacterias, actinomicetos o la mayoría de los hongos. Sin embargo, la gliovirina es un potente inhibidor de los oomicetos como las especies *Pythium* y *Phytophthora*. Las cepas “Q” de *T. virens* no producen gliovirina y las cepas “P” no producen gliotoxina (Howell et al., 1993). Cuando las cepas “P” o “Q” de *T. virens* se cultivan en sustratos con relaciones C/N altas, ambas producen el compuesto similar a un esteroide, viridiol. El viridiol tiene poca o ninguna actividad antibiótica, pero es una fitotoxina potente cuando al entrar en contacto con las raíces de las plantas y puede usarse como herbicida (Howell y Stipanovic, 1984).

Esta información es relevante porque en variedades de algodón, susceptibles a patógenos que causan marchitez en preemergencia, tratadas con cepas “P” de *T. virens* y sembradas en suelo infestado, no se observa emergencia. Esta diferencia entre las cepas “P” y “Q” no es aparente en cultivares resistentes a patógenos que causan marchitez en preemergencia. La impresión inicial con los cultivares susceptibles es que las cepas “P” no pueden controlar la enfermedad. Sin embargo, cuando las semillas tratadas con cepas “P” son sembradas en suelo



no infestado o en vermiculita esterilizada, estas tampoco emergen. Esto indica que las cepas “P” de *T. virens* son patógenas para los cultivares susceptibles de algodón, mientras que las cepas “Q” no lo son (Howell, 2006). ¿Y cuál es la razón de esto? Una comparación de las actividades enzimáticas y la producción de viridiol (herbicida) por las cepas “P” y “Q” indica que hay poca o ninguna diferencia entre ambas, y el tratamiento de semillas con el antibiótico gliovirina parece no tener ningún efecto sobre el rendimiento de semillas y desarrollo de las plántulas. La respuesta está en el hecho de que las cepas “Q” inducen la producción de altos niveles de fitoalexina en las raíces del algodón, mientras que las cepas “P” no lo hacen. Juntos, estos resultados indican que las cepas “P” y “Q” de *T. virens* son patógenos potenciales, pero las raíces de algodón pueden contener invasiones adicionales de cepas “Q” a través de la producción de fitoalexinas inducidas. Las cepas “P” no inducen una producción suficiente de fitoalexina por las raíces del algodón y, por lo tanto, son mucho menos contenidas en su invasión y destrucción del tejido de la planta hospedante (Howell y Puckhaber, 2005). En conjunto, las características exhibidas por las cepas de *T. virens* lo convierten en uno de los agentes de biocontrol más efectivos y versátiles para las plántulas de algodón y las enfermedades de las raíces (Howell, 2006).

### **Marchitez por fusarium**

La marchitez por fusarium en plantas de algodón, también conocido como fusariosis, fue reportado en algodón en Brasil por primera vez en la región Nordeste a mediados de la década de 1930 (Krug, 1936) y se ha diseminado a otras regiones productoras, siendo responsable del declive del cultivo de algodón en São Paulo, especialmente en la segunda mitad de la década de 1950. Actualmente, más del 95% del algodón cultivado en Brasil se encuentra en el bioma del Cerrado, en áreas relativamente nuevas con este cultivo. Sin embargo, en el estado de Mato Grosso, el mayor productor nacional, se estima que el 3% de las áreas afectadas por nematodos agalladores también están infestadas por el agente causal de la marchitez por fusarium (Galbieri et al., 2016).

La enfermedad es causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* que varía en patogenicidad según el cultivar usado, debido a que tiene diferentes razas. De las ocho razas descritas de este patógeno en el mundo (Davis et al., 2006), solo la raza seis del patógeno ha sido reportada en Brasil (Armstrong; Armstrong, 1978).

La marchitez por fusarium afecta al algodón en cualquier etapa del desarrollo del cultivo. En las plántulas, hay amarillamiento y marchitez de las hojas cotiledonares, oscurecimiento de las nervaduras, amarillamiento y necrosis de las primeras hojas verdaderas y, en casos más severos, muerte de las plántulas. En plantas adultas, se produce amarillamiento en áreas irregulares de la superficie de la hoja, marchitez de hojas y ramas, necrosis y, en ocasiones,

muerte de la planta. Algunas plantas afectadas pueden sobrevivir a la enfermedad, emitiendo nuevos brotes y estructuras reproductivas cerca del suelo, pero, en general, las ramas que se originan de estos nuevos brotes no son productivas. Durante el proceso infectivo, las plantas pierden todas sus hojas y los brotes nuevos caen, quedando sólo el tallo ennegrecido (Davis et al., 2006). Las plantas que sobreviven sufren una severa reducción del crecimiento. Al seccionar longitudinalmente tallos y raíces se observa el oscurecimiento de los haces vasculares; la luz de los vasos está obstruida por la formación de tilides, la presencia de esporas y micelios de hongos y sustancias producidas por el metabolismo del hongo en los vasos, lo que constituye la principal causa del síntoma de marchitez en la planta (Suassuna; Coutinho, 2015).

*F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* puede sobrevivir durante largos períodos en el suelo en forma de estructuras de resistencia (clamidosporas), así como en forma saprofitica en las raíces de otras plantas. La propagación del patógeno en distancias cortas ocurre a través de macro o microconidios y es favorecida por el movimiento de partículas del suelo contaminadas, principalmente a través de maquinaria agrícola, viento y agua; a largas distancias la dispersión ocurre principalmente a través de semillas contaminadas (Suassuna; Coutinho, 2014). A pesar del lento avance a lo largo de los años, una vez que el hongo se instala en una zona determinada, es muy difícil erradicarlo, debido a la notable capacidad de supervivencia de las clamidosporas, agravando el problema con cada cosecha a medida que aumenta la distribución de hongos en el cultivo.

La marchitez por fusarium es potenciada por la presencia de nematodos de los géneros *Meloidogyne*, *Rotylenchulus* y *Pratylenchus*, los cuales aumentan su severidad, ya que debilitan la planta y dañan las raíces, facilitando la penetración de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* en su sistema radicular (Paiva et al., 2001; Machado et al., 2009). Además de los nematodos, otras condiciones, como suelos con alto contenido de arena, pH bajo, alteraciones en la fertilidad, temperaturas entre 25 °C y 32 °C y alta humedad, favorecen la enfermedad.

El manejo de la marchitez por fusarium se realiza principalmente a través del principio de exclusión, evitando la introducción en áreas libres del patógeno. En estos casos es fundamental el uso de semillas libres de patógenos, así como el tratamiento de las semillas con fungicidas. Otras tácticas de manejo, como la rotación de cultivo y el uso de cultivares resistentes, tienen poco efecto, ya que el patógeno puede sobrevivir durante varios años en el suelo, lo que inviabiliza el efecto de la rotación y no hay cultivares completamente resistentes a la marchitez por fusarium disponible en el mercado.

Aunque el uso de agentes de control biológico para patógenos que habitan en el suelo es poco utilizado, este puede ser de fundamental importancia en la supresión de enfermedades en áreas infestadas. Se sabe que diferentes aislados de especies de *Trichoderma* tienen diversas estrategias para el antagonismo contra los hongos, así como diversos efectos indirectos sobre

la sanidad vegetal. Los posibles mecanismos de antagonismo usados por los aislados de *Trichoderma* incluyen competencia por nutrientes y espacio, antibiosis y micoparasitismo. En el caso de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, los objetivos que son atacados por el agente de biocontrol son las estructuras de supervivencia del patógeno, las clamidosporas, además de la competencia directa con el patógeno.

La competencia por nutrientes, principalmente carbono, nitrógeno y hierro, puede resultar en el control biológico de los patógenos de las plantas. En muchos casos en los que la cantidad de estos nutrientes se hace limitante para el patógeno, debido a la intensa actividad microbiana, el suelo se convierte en un supresor. Se ha demostrado que las especies de *Trichoderma* utilizan el mecanismo de competencia para colonizar la rizosfera y obtener nutrientes a expensas de las especies de *Fusarium*. De esta forma, logran controlar la germinación de esporas y el crecimiento micelial de *F. oxysporum* (Tjamos et al., 1992). Los mismos autores también observaron que el control fue más efectivo a medida que disminuía la concentración de nutrientes en el suelo. Se han identificado compuestos a base de carbono y nitrógeno que son necesarios para la germinación de clamidosporas de *F. solani* f. sp. *Phaseoli* (Cook y Schroth 1965). También se ha demostrado el papel de diferentes fuentes de carbono, tanto sintéticas como excretadas por la rizosfera de las plantas, en la estimulación de la germinación de las clamidosporas de *F. oxysporum* (Elad; Baker, 1985). A niveles bajos, los nutrientes son limitantes y los efectos competitivos de las especies de *Trichoderma* son evidentes, lo que da como resultado una reducción significativa en la germinación de clamidosporas. Sin embargo, a altas concentraciones de fuentes de carbono o en presencia de exceso de exudados de raíces, la reducción de la marchitez por fusarium en algodón por la cepa T-35 de *T. harzianum* fue completamente neutralizada (Sivan y Chet, 1989). Por lo tanto, el uso de *Trichoderma* en la supresión de la marchitez por fusarium en algodón, a través del mecanismo de competencia, solo tendrá resultados satisfactorios cuando se utilice en suelos de baja fertilidad y bajo contenido de materia orgánica.

Además de la competencia, las especies de *Trichoderma* parasitan una amplia gama de hongos y son capaces de detectar y crecer hacia los hongos hospedantes y suprimir su desarrollo. La percepción de otros hongos a ciertas distancias y la expresión de enzimas que degradan la pared celular, principalmente quitinasas, glucanasas y proteasas (Harman et al., 2004) hacen competentes a este género de hongos antagonistas. El micoparasitismo en *T. virens* se ha asociado con su capacidad para sintetizar y secretar extracelularmente la enzima quitinasa (Baek et al., 1999). Sin embargo, no parece haber correlación entre la actividad enzimática y la capacidad de biocontrol contra *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Ordentlich et al., 1991), ya que diferentes cepas con buena capacidad de biocontrol tenían diferentes índices enzimáticos, principalmente en actividad  $\beta$ -1,3-glucanasa y quitinasa. La actividad de biocontrol a nivel en

la rizosfera debe implicar interacciones más complejas, como el reconocimiento específico del hongo hospedante (Barak et al., 1985), la producción de sustancias antibióticas (Bell et al., 1982) y, como se discutió anteriormente, la competencia por los nutrientes (Sivan y Chet, 1989).

Además de la inducción de la síntesis de aldehídos terpenoides hemisipol y desoxihemisipol, la colonización de las raíces de plantas de algodón por *T. virens* también induce la síntesis de fitoalexinas. Estos a su vez protegen las raíces contra los patógenos vasculares. El tratamiento de semillas de algodón con *T. virens* y la posterior colonización del sistema de raíces en desarrollo suprimieron la aparición de síntomas de marchitez por fusarium cuando las plantas se inocularon posteriormente con el patógeno (Zhang et al., 1996).

Durante el proceso de germinación, las semillas de algodón liberan compuestos que estimulan la germinación de las estructuras de supervivencia de los patógenos habitantes del suelo y, posteriormente, la infección de la plántula. El tratamiento de semillas con *T. virens* prevendría la infección de las plántulas al interrumpir el proceso. El agente de control biológico que recubre la semilla metaboliza los compuestos que estimulan la germinación antes de que estimulen los propágulos del patógeno en el suelo (Howell, 2002).

La capacidad de las cepas "Q" para colonizar y penetrar la epidermis y la corteza de las raíces de algodón, además de la capacidad de sintetizar proteínas elicitoras, puede conducir a la inducción de una mayor actividad de la peroxidasa y la síntesis de fitoalexinas en las raíces. Estos fenómenos protegen al sistema radicular de las plantas en desarrollo de la posterior infección por patógenos que causan la pudrición de la raíz y la marchitez vascular. La capacidad de las cepas de *T. virens* para metabolizar los compuestos que estimulan la germinación de los propágulos del patógeno, que son emitidos por la germinación de las plántulas de algodón antes de que lleguen a los propágulos en reposo del patógeno, también es un medio eficaz para controlar la enfermedad de las plántulas, lo que permite que la plántula evite la infección porque el patógeno no ha sido estimulado por la planta (Howell, 2006). Si la germinación de los propágulos del patógeno es estimulada de forma artificial, entonces el tratamiento de las semillas con *T. virens* no garantiza a la planta ninguna protección contra las enfermedades iniciales de las plántulas. Además, la capacidad de *T. virens* para sobrevivir mediante el recubrimiento de las semillas de algodón con fungicidas sistémicos (Howell et al., 1997) amplió el espectro de la actividad del hongo como agente de control biológico.

Para comprender los mecanismos de acción de *T. virens* involucrados en el control biológico de las enfermedades del algodón, Howell (2006) inoculó semillas de algodón y realizó una prueba de campo. A partir de muestras de raíces de plantas, esterilizadas en su superficie, recolectadas a diferentes intervalos a lo largo del periodo de cultivo, fue posible recuperar *T. virens* de las raíces en todos los muestreos. El hongo colonizó las raíces principales y secundarias en la capa más superficial del suelo. Sin embargo, al final del periodo de cultivo,

el hongo fue encontrado principalmente en las raíces principales y primarias. Como las raíces fueron esterilizadas rigurosamente en la superficie, se supone que el hongo había penetrado en las raíces.

Se ha demostrado la capacidad de *T. harzianum* para penetrar raíces y desarrollarse endófitamente. El hongo penetró la epidermis y creció en las capas externas de la corteza de la raíz, donde indujo respuestas de defensa en plantas de pepinos (Yedidia et al., 1999). La colonización de las raíces de algodón por *T. virens* indujo la síntesis de altos niveles de los aldehídos terpenoides hemisipol (HG) y desoxihemigisopol (dHG), que son intermediarios en la vía que lleva a la síntesis del dímero gosispol (Howell, 2006). Tanto el HG como el dHG y el gosispol son inhibidores de *R. solani*; el dHG es dos veces más tóxico que el HG y el gosispol tiene poco efecto inhibitor. Sin embargo, *T. virens* y *T. koningii* son resistentes a la toxina HG (Howell et al., 2000). *T. virens* induce la síntesis de terpenoides en las raíces de algodón al producir una proteína de 18 kDa que provoca un aumento en la actividad de la peroxidasa y las concentraciones de terpenoides en las raíces inoculadas (Hanson; Howell, 2004). La capacidad de una cepa de *T. virens* para inducir la síntesis de terpenoides en las raíces del algodón fue crucial para su eficacia como agente de biocontrol de enfermedades en las plántulas de algodón (Howell, 2006). Las cepas que no inducen la síntesis de terpenoides no protegen las raíces de la posterior infección por un patógeno. Sin embargo, la protección de la raíz por parte de *Trichoderma virens* no se extiende al hipocótilo. No se detectaron aumentos en la actividad de la peroxidasa o la síntesis de terpenoides en las partes aéreas de las plantas de algodón tratadas con *T. virens*, por lo que se trata de una respuesta localizada (Howell, 2006).

### **Mancha foliar causada por *Ramularia***

El primer reporte de la ocurrencia de la mancha foliar por *Ramularia* en el algodón fue en Auburn, Alabama. Históricamente, en Brasil, la mancha foliar por *Ramularia* había sido reportada como una enfermedad secundaria (Cia, 1977; Cia; Salgado, 1997). Sin embargo, esta surgió como la enfermedad más importante del algodón, particularmente después del aumento de las áreas de cultivo en el Cerrado, junto con el uso de cultivares de algodón nuevos y susceptibles y, a veces, en monocultivos (Suassuna; Coutinho, 2014). Además, las condiciones climáticas, como el período prolongado de alta humedad del aire y la temperatura diurna que oscila entre 25 y 30 °C, que prevalecen durante la estación de crecimiento, favorecen el desarrollo de esta enfermedad (Rathaiiah, 1977). Estos factores pudieron haber contribuido al aumento del inóculo inicial del patógeno a lo largo de los años, dando como resultado infecciones cada vez más precoces, lo que convirtió a la enfermedad en una epidemia. Como resultado, actualmente se requieren un mayor número de aplicaciones de

fungicidas en cada período de cultivo en las áreas de siembra, lo que aumenta los costos del control químico de enfermedades y aumenta el riesgo de desarrollar poblaciones de patógenos resistentes a los fungicidas. Actualmente, en Brasil, la mancha foliar por *Ramularia* requiere hasta ocho aplicaciones de fungicida en cada ciclo de cultivo en un área superior a 1.000.000 de hectáreas.

La fase conidial del agente causal de la mancha foliar es *Ramulariopsis pseudoglicinas* (Sinónimos: *Ramularia areola* Atk., *Ramulariopsis gossypii* (Speg.) U. Braun, *Ramularia gossypii* (Speg.) Ciferi, *Cercospora gossypii* Speg.), anamorfo de *Mycosphaerella areola* Ehrlich y Wolf. El hongo se desarrolla en tres etapas distintas durante su ciclo de vida. La etapa conidial que ocurre en los tejidos vivos, mientras las hojas permanecen adheridas a las plantas y durante un período breve después de la abscisión foliar. La etapa de espermogonia que ocurre después de la caída de la hoja y es seguida por la etapa ascogónica, que se desarrolla en hojas parcialmente descompuestas (Ehrlich y Wolf, 1932).

Los primeros síntomas de la enfermedad aparecen simultáneamente con el inicio de la fase reproductiva de la planta, generalmente entre la aparición del primer botón floral y la apertura de la primera flor. Los síntomas de la enfermedad se caracterizan por la aparición de lesiones de forma angular de color blanco. En condiciones climáticas favorables, se produce una intensa esporulación del patógeno en el centro de las lesiones, dándoles un aspecto blanquecino. Así, el número de lesiones aumenta y llegan a ocupar casi toda la lámina foliar, lo que produce necrosis después del período de esporulación del patógeno. La alta severidad de la enfermedad induce la defoliación temprana en las plantas (Suassuna; Coutinho, 2015).

*R. pseudoglicines* puede sobrevivir en las malezas presentes en cultivos de algodón, así como en los nuevos brotes de las plantas que sobreviven de temporadas anteriores. En consecuencia, estas plantas remanentes pueden desarrollar el inóculo primario que estará disponible al comienzo del nuevo ciclo de cultivo. Además, se identificó la fase perfecta en las hojas de algodón en descomposición en los campos durante el período fuera del ciclo de cultivo (Mehta et al., 2016). Por lo tanto, el inóculo primario puede originarse a partir de conidios generados por la fase anamórfica desarrollada en las malezas asociadas con el algodón y/o rebrotes de tallo o de ascosporas producidas por la fase teleomórfica en hojas de algodón.

El manejo de la mancha foliar por *Ramularia* puede ser hecho a través de varios métodos de control, destacándose la resistencia genética, el control químico y el control cultural. Las plantaciones menos densas y conducidas de forma de evitar la sombra excesiva entre las plantas y el control químico son las principales tácticas utilizadas. Como la mayoría de los cultivares actualmente en uso en Brasil no tienen una resistencia completa a la enfermedad, el control químico es una táctica comúnmente utilizada para contener la enfermedad y debe iniciarse tan pronto como se identifiquen las primeras lesiones en las hojas más viejas. El monitoreo

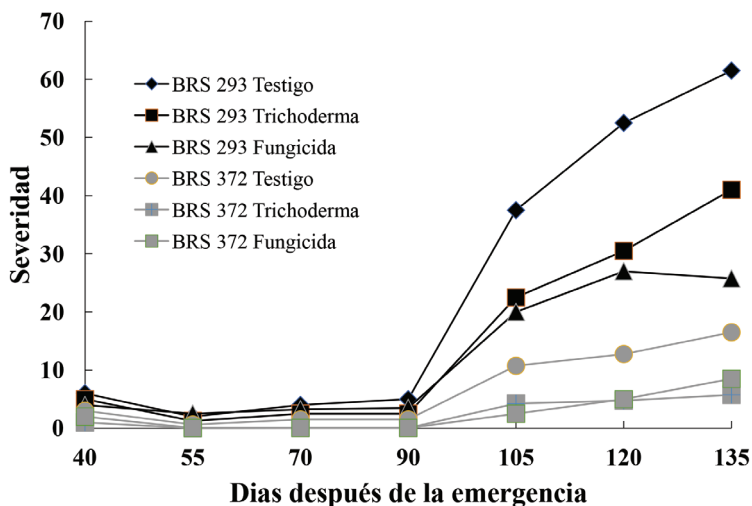
constante del cultivo es crucial ya que las primeras lesiones son difíciles de identificar antes de que ocurra la esporulación (Suassuna; Coutinho, 2015). Los daños causados por la enfermedad se extienden hasta el final del ciclo de cultivo, siendo mayores entre el inicio de la floración y la apertura de los primeros botones. Después de la apertura de los botones, el control químico no muestra ningún beneficio.

A pesar del éxito relativo del control químico de la mancha foliar por *Ramularia*, existe una creciente preocupación de la sociedad referida a la producción de alimentos y fibras con uso reducido o incluso sin el uso de pesticidas químicos o con producción certificada, donde debe existir garantía de que fueron utilizados correctamente. Para ello, se requieren otras estrategias de control. Entre las alternativas para el manejo de enfermedades, el control biológico es una herramienta interesante, ya que constituye una práctica agrícola ecológicamente sostenible (Morandi; Bettiol, 2009). Las especies de *Trichoderma* se utilizan con éxito para controlar los fitopatógenos habitantes del suelo, ya que son capaces de proteger a las plantas a través de diferentes mecanismos de acción y porque colonizan eficientemente el sustrato y el sistema radicular de varias especies de plantas (Harman et al., 2004; Woo et al., 2006). Además, este género se encuentra entre los microorganismos más resistentes a toxinas y químicos naturales y sintetizados por humanos, incluso capaces de degradar algunos de estos compuestos, como hidrocarburos y pesticidas (Harman, 2006; Woo et al., 2006). Otra característica importante de este género es que muchas de sus cepas producen esporas y antibióticos en abundancia (Woo et al., 2006; Lucon et al., 2009).

La aplicación foliar de *Trichoderma* para el control de patógenos que causan enfermedades en la parte aérea de las plantas no es una práctica común en comparación con la aplicación a semilla y suelo, debido a la dificultad en su establecimiento, así como a la exposición a condiciones adversas y pesticidas químicos. En hojas de fresa, se ha demostrado que *T. atroviride* inhibe el desarrollo de *B. cinerea* (Card et al., 2009). El punto de entrada de *B. cinerea* al tejido vegetal es a través de heridas, senescencia de los tejidos de la planta hospedante o aberturas naturales como estomas y lenticelas, que generalmente son áreas ricas en nutrientes debido a la exudación de azúcares y aminoácidos. En este caso, la colonización de heridas o tejidos senescentes por *Trichoderma* genera una competencia directa por nutrientes con *B. cinerea*, previniendo la infección (Vos et al., 2015). En algodón, la aplicación foliar de *T. viride* redujo la severidad de la mancha foliar por ramularia, tanto cuando se aplicó sola como en asociación con fungicidas (Duarte et al., 2007; Freitas et al., 2007).

Sin embargo, la mera sustitución de un producto químico por uno biológico no es la opción más adecuada, sino el desarrollo de un sistema de manejo integrado que incluya el control de malezas entre ciclos de cultivo, con el objetivo de reducir el inóculo inicial, siembra en la época recomendada para la zona de cultivo específica, el uso de genotipos tolerantes o resistentes a la enfermedad, el monitoreo de los síntomas de la enfermedad, con miras al uso

del método de control adecuado y el uso de fungicidas y agentes de biocontrol. Con el uso combinado de la aplicación de *T. asperellum*, uso de fungicidas y la resistencia genética de las variedades, Silva et al. (2017) observaron reducciones significativas en la severidad de la mancha foliar por ramularia en ensayos realizados en campos con alta presión de inóculo y concluyeron que es posible utilizar estas herramientas en el manejo integrado. En este estudio, Silva et al. (2017) inicialmente observaron los efectos de la aplicación de fungicidas sobre la severidad de la enfermedad en seis genotipos de algodón, habiendo seleccionado los genotipos BRS 293 y BRS 372 que se comportaron como susceptible y tolerante, respectivamente, para estudios con control biológico. Posteriormente, los autores verificaron que un producto a base de *T. asperellum* redujo la severidad de la mancha foliar por ramularia tanto en variedades susceptibles (BRS 293) como tolerantes (BRS 372) (Figura 1). Estos resultados indican claramente el potencial de la integración de métodos de control de enfermedades.



**Figura 1.** Severidad de la mancha foliar por ramularia en algodón tratado o no con *T. asperellum* (Quality WG – Laboratório Farroupilha) o con fungicida (Tetraconazole – Emerald, FMC) en Sapezal, Mato Grosso, en condiciones de campo en 2012/2013.

Fuente: adaptado de Silva et al., 2017

## Podrición blanca

Esta enfermedad es causada por el hongo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Este hongo tiene una amplia distribución en todo el mundo, con al menos 400 especies de plantas hospedantes (Boland y Hall, 1994). En Brasil, el agente causal de la pudrición blanca en el



algodón se asocia comúnmente con pérdidas significativas de producción en los cultivos de frijol (Charchar et al., 1994; Cardoso, 1994) y soja (Yorinori, 1987). En junio de 1996, se observaron síntomas de marchitez, necrosis y pudrición húmeda del tallo, pecíolo de la hoja y la bellota en un área sembrada con algodón, cultivar Deltapine 90, regado con pivote central en el municipio de Paracatu, Minas Gerais. En el interior del capullo, en el 95% de las plantas inspeccionadas se encontró micelio blanco de aspecto algodonoso y esclerocios oscuros e irregulares del patógeno. Del tejido infectado se realizaron aislamientos y se observó la formación de colonias blancas con esclerocios negros, irregulares y de tamaño variable. Los esclerocios encontrados dentro de los capullos desarrollaron apotecios en aproximadamente 60 días (Charchar et al., 1999). Estos autores afirmaron que, considerando el amplio número de plantas de algodón infectadas por el hongo *S. sclerotiorum* en el campo y la severidad de los síntomas observados en diferentes partes de la planta, bajo ciertas circunstancias, esta enfermedad puede llegar a ser bastante perjudicial en el cultivo de algodón en Brasil, y por lo tanto debe ser una preocupación constante del productor, tanto en la selección de la especie a sembrar como en el manejo adecuado, al verificar la presencia del patógeno en un área determinada.

Recientemente, la enfermedad fue observada en plantaciones de algodón en los estados de Bahía y Goiás, en áreas con riego en pivote central, donde previamente existían cultivos continuos de frijol. La enfermedad también ha sido observada en zonas altas en otros estados, incluyendo áreas de algodón sin riego, causando una reducción en el estand de plantas y con alta severidad en plantas adultas.

Los pétalos de las flores de algodón que han caído de la planta después de la fecundación de la flor constituyen un sustrato ideal para la germinación de los esclerocios de *S. sclerotiorum*. Otro factor agravante es el hecho de que la planta de algodón forma un microclima, durante un largo período, muy favorable para el desarrollo del patógeno. Debido a la supervivencia de los esclerocios del hongo en el suelo, junto con el hecho de que la planta de algodón tiene un período de floración prolongado, el manejo a largo plazo de esta enfermedad es bastante difícil.

Los síntomas de la enfermedad son la marchitez, necrosis y pudrición húmeda en tallos, pecíolos y bellotas. En el interior del capullo, por lo general, se encuentra un micelio blanco algodonoso y se forman esclerocios oscuros e irregulares tanto en el interior como en el exterior de la bellota. Los esclerocios que se encuentran dentro de los capullos desarrollan apotecios en aproximadamente 60 días (Charchar et al., 1999). A diferencia de los esclerocios formados en otras plantas, como el frijol y la soja, los esclerocios formados en el algodón son más grandes y, a partir de ellos, germinan muchos apotecios.

La alta humedad combinada con temperaturas que oscilan entre 15 °C y 25°C son condiciones predisponentes para la enfermedad. El hongo sobrevive en el suelo durante

algunos años en forma de esclerocios. Las ascosporas producidas en apotecios, que se originan a partir de la germinación de esclerocios, corresponden al inóculo primario del patógeno. Los pétalos de las flores de algodón caídas después de la fertilización de las flores pueden formar un sustrato ideal para la germinación de esclerocios de *S. sclerotiorum*. Las ascosporas del hongo pueden ser dispersadas por el viento y sobrevivir hasta 12 días en el campo. Los esclerocios pueden ser dispersados por las mezclas o estar adheridos a las semillas o por semillas internamente infectadas. Los esclerocios presentes en el suelo y en los restos de cultivos también pueden ser dispersados por agua o implementos agrícolas.

Recientemente, se han realizado esfuerzos para reducir los costos de producción en el cultivo de algodón, siendo el cultivo de segunda cosecha (*safrinha*) una alternativa viable, principalmente en el estado de Mato Grosso. Actualmente, la mayor área plantada con algodón en Mato Grosso está en la segunda cosecha, después de la cosecha de soja. En este contexto, la sucesión de cultivos susceptibles a la pudrición blanca puede aumentar la severidad de la enfermedad en áreas donde se presenta *S. sclerotiorum*. Además del cultivo de segunda cosecha, también se han probado densidades de plantas más altas en los últimos años, lo que reduce el espacio entre hileras, conocido como sistema de plantación densa (Kappes et al., 2016). En este sistema de cultivo, se presentó mayor incidencia y severidad de la enfermedad cuando el algodón se cultivó con mayor densidad (10 plantas/m, en comparación con 8, 6 o 4 plantas/m), así como el cultivar FM 966, de menor altura, tuvo menor incidencia y la severidad de la pudrición blanca que los cultivares altos (Suassuna et al., 2009a). Bajo condiciones naturales de infestación en el campo, probando 34 genotipos diferentes de algodón, todos fueron susceptibles a la enfermedad (Suassuna et al., 2009b).

La capacidad de *S. sclerotiorum* para formar estructuras de resistencia (esclerocios), incluso en condiciones adversas, que garanticen su supervivencia durante varios años, limita el uso de especies de cultivos agrícolas en la rotación de cultivos. No existen cultivares de algodón resistentes y el control químico no siempre es efectivo. En este contexto, las formulaciones comerciales a base de los hongos *T. harzianum* y *T. asperellum*, que buscan la reducción de esclerocios, aún pueden aplicarse en cultivos de soja al final del ciclo (en sistema de segundo cultivo) o al inicio del cultivo de algodón (monocultivo), aunque, antes del comienzo de la floración. Deben evitarse las aplicaciones en periodos entre dos ciclos de cultivo debido a la prevalencia de condiciones ambientales desfavorables para el establecimiento de *Trichoderma*. Para el manejo de la enfermedad se debe implementar el uso combinado de medidas como control biológico, control químico durante el período de floración (en casos de alta severidad), rotación de cultivos con plantas no hospedantes, adopción del sistema de siembra directa, entre otras prácticas.

## Consideraciones finales

El cultivo del algodón demanda una gran cantidad de plaguicidas químicos en el manejo de adversidades de origen biótico, principalmente en un ambiente tropical. Es necesario reducir el volumen de plaguicidas, tanto por razones ambientales como de índole económico. Una de las posibilidades que se contempla es la generación y/o aplicación de tecnologías que establezcan un equilibrio biológico entre la población de fitopatógenos y los agentes de control biológico en el cultivo, garantizando la estabilidad de la producción. En este contexto, los hongos del género *Trichoderma*, conocidos por su actividad simbiótica con las plantas cultivadas, ejercen efectos positivos sobre el crecimiento, desarrollo, productividad e inducción de respuestas de defensa. Además, al ser micoparásitos, protegen a las plantas directamente contra los hongos fitopatógenos. Estas características hacen del género *Trichoderma* un excelente tema de exploración por su potencial.

Recientemente, se ha propuesto que la manipulación del microbioma de la planta puede ser una estrategia de biocontrol en el campo (Berg et al., 2017). El uso de microorganismos capaces de modificar todo el microbioma de la planta conducirá al desarrollo de nuevas estrategias de biocontrol basadas en la población de microorganismos en su conjunto, ayudando a las plantas a desarrollar defensas frente a patógenos. La diversidad del microbioma es crucial para la salud de las plantas y puede cambiar fácilmente de beneficiosa a perjudicial (Yan et al., 2017). Los microorganismos benéficos, como los hongos micorrízicos, las bacterias fijadoras de nitrógeno y los hongos y bacterias endófitos se encuentran entre los organismos más influyentes en la estructura microbiana de la planta, entre ellos, especies del género *Trichoderma*.

## Referencias

- ARMSTRONG, G. M.; ARMSTRONG, J. K. A new race (race 6) of the cotton-wilt *Fusarium* from Brazil. **Plant Disease Reporter**, v. 62, n. 5, p. 421-423, 1978.
- BAEK, J. M.; HOWELL, C. R.; KENERLEY, C. M. The role of extracellular chitinase from *Trichoderma virens* Gv29-8 in the biocontrol of *Rhizoglyphus solani*. **Current Genetics**, v. 35, n. 1, p. 41-50, 1999.
- BAKER, R. Improved *Trichoderma* spp. for promoting crop productivity. **Trends of Biotechnology**, v. 7, n. 2, p. 34-38, 1989.
- BARAK, R.; ELAD, Y.; MIRELMAN, D.; CHET, I. Lectins: a possible basis for specific recognition of *Trichoderma* and *Sclerotium rolfsii*. **Phytopathology**, v. 75, n. 4, p. 458-462, 1985.
- BARROSO, P. A. V.; SUASSUNA, N. D.; PEDROSA, M. B.; MORELLO, C. L.; SILVA, J. L.; LAMAS, F. M.; BOGIANI, J. C. BRS 368RF: a glyphosate tolerant, midseason upland cotton cultivar for Northeast and North Brazilian savanna. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, n. 4, p. 388-402, 2017.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal pathogens. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 379-382, 1982.
- BELMER, E.; SALGADO, C.; CIA, E.; CAMPOS, H. Efeito do potencial de inóculo de *Colletotrichum gossypii* South. sobre o tombamento das mudinhas de algodoeiro. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 23, p. 325-328, 1966.

- BERG, G.; KÖBERL, M.; RYBAKOVA, D.; MÜLLER, H.; GROSCH, R.; SMALLA, K. Plant microbial diversity is suggested as the key to future biocontrol and health trends. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 5, p. fix050, 2017.
- BETTIOI, W. Biopesticide use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v. 22, n. 6, p. 280-283, 2011.
- BETTIOI, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; CORRÊA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. de C. do B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 88).
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plants hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93-108, 1994.
- CARD, S. D.; WALTER, M.; JASPERS, M. V.; AZTEJNBERG, A.; STEWART, A. Targeted selection of antagonistic microorganisms for control of *Botrytis cinerea* of strawberry in New Zealand. **Australasian Plant Pathology**, v. 38, n. 2, p. 183-192, 2009.
- CARDOSO, J. E. Mofo branco. In: SARTORATO, A.; RAVA, C. A. (Ed.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, 1994. p. 111-122. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 50).
- CHARCHAR, M. J. D'A.; ANJOS, J. R. N. dos; OSSIPI, E. Ocorrência de nova doença do algodoeiro irrigado, no Brasil, causada por *Sclerotinia sclerotiorum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 6, p. 1101-1106, 1999.
- CHARCHAR, M. J. D'A.; NASSER, L. C. B.; GOMES, A. C.; IIZUCA, N. Incidência de doenças de plantas em áreas irrigadas com pivô central no Distrito Federal. In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado (Planaltina, DF). **Relatório técnico anual 1987/1990**. Planaltina, 1994. p. 233-238.
- CIA, E. Ocorrência e conhecimento das doenças de algodoeiro anual *Gossypium hirsutum* L. no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 3, n. 3, p. 167-193, 1977.
- CIA, E.; SALGADO, C. L. Doenças do algodoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: volume 2: doenças de plantas cultivadas. 4 ed. São Paulo: Ceres, 1997. p. 33-48.
- COOK, R. J.; SCHROTH, M. N. Carbon and nitrogen compounds and germination of chlamydsopores of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. **Phytopathology**, v. 55, p. 254-256, 1965.
- DAVIS, R. M.; COLYER, P. D.; ROTHROCK, C. S.; KOCHMAN, J. K. Fusarium wilt of cotton: diversity and implications for management. **Plant Disease**, v. 90, n. 6, p. 692-703, 2006.
- DI PIETRO, A.; LORITO, M.; HAYES, C. K.; BROADWAY, R. M.; HARMAN, G. E. Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation, characterization and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. **Phytopathology**, v. 83, n. 3, p. 308-313, 1993.
- DRUZHININA, I. S.; CHENTHAMARA, K.; ZHANG, J.; ATANASOVA, L.; YANG, D.; MIAO, Y.; RAHIMI, M. J.; GRUJIC, M.; CAI, F.; POURMEHDI, S.; SALIM, K. A.; PRETZER, C.; KOPCHINSKIY, A. G.; HENRISSAT, B.; KUO, A.; HUNDLEY, H.; WANG, M.; AERTS, A.; SALAMOV, A.; LIPZEN, A.; LABUTTI, K.; BARRY, K.; GRIGORIEV, I. V.; SHEN, Q.; KUBICEK, C. P. Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall-degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts. **PLoS Genetics**, v. 14, n. 4, e1007322, 2018.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHER-JEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749-759, 2011.
- EHRlich, J.; WOLF, F. A. Areolate mildew of cotton. **Phytopathology**, v. 22, p. 229-240, 1932.
- ELAD, Y.; KALFON, A.; CHET, I. Control of *Rhizoglyphus solani* in cotton by seed-coating with *Trichoderma* spp. spores. **Plant and Soil**, v. 66, n. 2, p. 279-281, 1982.
- ELAD, Y.; BAKER, R. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydsopore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. **Phytopathology**, v. 75, n. 9, p. 1053-1059, 1985.
- FARIA, A. Y. K.; ALBUQUERQUE, M. C. F. E.; CASSETARI NETO, D. Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro submetidas a tratamentos químico e biológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 121-127, 2003.
- GALBIERI, R.; VAZ, C. M. P.; SILVA, J. F. V.; ASMUS, G. L.; CRESTANA, S.; MATOS, E. S.; MAGALHÃES, C. A. S. Principais espécies de nematoides do algodoeiro no Brasil. In: GALBIERI, R.; BELOT, J. L. (Ed.). **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros**: biologia e medidas de controle. Cuiabá: IMAmT, 2016. p. 37-89.

- GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M. D.; OLMEDO-MONFIL, V.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. **Phytopathology**, v. 109, n. 1, p. 6-16, 2019.
- HANSON, L. E.; HOWELL, C. R. Elicitors of plant defense responses from biocontrol strains of *Trichoderma virens*. **Phytopathology**, v. 94, n. 2, p. 171-176, 2004.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. (Ed.). **Biotechnology and biology of *Trichoderma***. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 125-137.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.
- HILLOCKS, R. J. Seedling diseases. In: HILLOCKS, R. J. (Ed.). **Cotton diseases**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 1-38.
- HOWELL, C. R. Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 92, n. 2, p. 177-180, 2002.
- HOWELL, C. R. Effect of seed quality and combination fungicide-*Trichoderma* spp. seed treatments on pre- and postemergence damping-off in cotton. **Phytopathology**, v. 97, n. 1, p. 66-71, 2007.
- HOWELL, C. R. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 178-180, 2006.
- HOWELL, C. R.; DEVAY, J. E.; GARBER, R. H.; BATSON, W. E. Field control of cotton seedling diseases with *Trichoderma virens* in combination with fungicide seed treatments. **Journal of Cotton Science**, v. 1, n. 1, p. 15-20, 1997.
- HOWELL, C. R.; HANSON, L. E.; STIPANOVIC, R. D.; PUCKHABER, L. S.; WHEELER, M. H. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. **Phytopathology**, v. 90, n. 3, p. 248-252, 2000.
- HOWELL, C. R.; PUCKHABER, L. S. A study of the characteristics of "P" and "Q" strains of *Trichoderma virens* to account for differences in biological control efficacy against cotton seedling diseases. **Biological Control**, v. 33, n. 2, p. 217-222, 2005.
- HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D. Gliovirin, a new antibiotic from *Gliocladium virens* and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 29, n. 3, p. 321-324, 1983.
- HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D. Phytotoxicity to crop plants and herbicidal effects on weeds of viridiol produced by *Gliocladium virens*. **Phytopathology**, v. 74, n. 11, p. 1346-1349, 1984.
- HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D.; LUMSDEN, R. D. Antibiotic production by strains of *Gliocladium virens* and its relation to the biocontrol of cotton seedling diseases. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, n. 4, p. 435-440, 1993.
- JULIATTI, F. C.; RUANO, O. Algodão (*Gossypium hirsutum* L.): controle de doenças. In: VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV, 1997. p. 555-558.
- KAPPES, C.; ZANCANARO, L.; FRANCISCO, E. A. B. Nitrogen and potassium in narrow-row cotton. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, e0150103, 2016.
- KRUG, H. P. *Fusarium* como causador da murcha do algodoeiro no Brasil. In: REUNIÃO DE PHYTOPATHOLOGISTAS DO BRASIL, 1, 1956, Rio de Janeiro. **Annaes...** Rio de Janeiro: Instituto de Biologia Vegetal, 1956. p. 319-321.
- KUBICEK, C. P.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SEIDL-SEIBOTH, V.; MARTINEZ, D. A.; DRUZHININA, I. S.; THON, M.; ZEILINGER, S.; CASAS-FLORES, S.; HORWITZ, B. A.; MUKHERJEE, P. K.; MUKHERJEE, M.; KREDICS, L.; ALCARAZ, L. D.; AERTS, A.; ANTAL, Z.; ATANASOVA, L.; CERVANTES-BADILLO, M. G.; CHALLACOMBE, J.; CHERTKOV, O.; MCCLUSKEY, K.; COULPIER, F.; DESHPAN-DE, N.; VON DÖHREN, H.; EBBOLE, D. J.; ESQUIVEL-NARANJO, E. U.; FEKETE, E.; FLIPPHI, M.; GLASER, F.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, E. Y.; GRUBER, S.; HAN, C.; HENRISSAT, B.; HERMOSA, R.; HERNÁNDEZ-OÑATE, M.; KARAFFA, L.; KOSTI, I.; LE CROM, S.; LINDQUIST, E.; LUCAS, S.; LÜBECK, M.; LÜBECK, P. S.; MARGEOT, A.; METZ, B.; MISRA, M.; NEVALAINEN, H.; OMANN, M.; PACKER, N.; PERRONE, G.;

- URESTI-RIVERA, E. E.; SALAMOV, A.; SCHMOLL, M.; SEIBOTH, B.; SHAPIRO, H.; SUKNO, S.; TAMAYO-RAMOS, J. A.; TISCH, D.; WIEST, A.; WILKINSON, H. H.; ZHANG, M.; COUTINHO, P. M.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; BAKER, S. E.; GRIGORIEV, I. V. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, p. R40, 2011.
- LEWIS, J. A.; PAPAIVAS, G. C. Biocontrol of cotton damping-off caused by *Rhizoctonia solani* in the field with formulations of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens*. **Crop Protection**, v. 10, n. 5, p. 396-402, 1991.
- LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M.; ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R. A.; HARAKAVA, R. Bioprospeção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 225-232, 2009.
- MACHADO, L. P.; MICHEREFF, S. J.; FALLEIRO, B. A. S.; OLIVEIRA, M. G.; COUTINHO, W. M.; MORELLO, C. L.; SUASSUNA, N. D. Um método simples e rápido de seleção para resistência à murcha-de-fusário em genótipos de algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 1, p. 51-55, 2009.
- MEHTA, Y. R.; GALBIERI, R.; MARANGONI, M. S.; BORSATO, L. C.; RODRIGUES, H. P.; PEREIRA, J.; MEHTA, A. *Mycosphaerella areola*: the teleomorph of *Ramularia areola* of cotton in Brazil, and its epidemiological significance. **American Journal of Plant Sciences**, v. 7, n. 10, p. 1415-1422, 2016.
- MERCADO de biodefensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano. Brasília, DF: Mapa. Publicado em: 21 mar. 2019. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/feffmercado-de-biodefensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>>. Acesso em: 24 mar. 2019.
- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguarúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.
- MORELLO, C. L.; SUASSUNA, N. D.; BARROSO, P. A. V.; SILVA, J. L.; FERREIRA, A. C. B.; LAMAS, F. M.; PEDROSA, M. B.; CHITARRA, L. G.; RIBEIRO, J. L.; GODINHO, V. P. C.; LANZA, M. A. BRS 369RF and BRS 370RF: Glyphosate tolerant, high-yielding upland cotton cultivars for central Brazilian savanna. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, n. 4, p. 290-294, 2015.
- ORDENTLICH, A.; MIGHELLI, Q.; CHET, I. Biological control activity of three *Trichoderma* isolates against Fusarium wilts of cotton and muskmelon and lack of correlation with their lytic enzymes. **Journal of Phytopathology**, v. 133, n. 3, p. 177-186, 1991.
- PAIVA, F. de A.; ASMUS, G. L.; ARAÚJO, A. E. de. Doenças. In: EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Algodão: tecnologia de produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Campinas Grande: Embrapa Algodão, 2001. p. 245-267.
- RATHAIAH, Y. Spore germination and mold of cotton infection by *Ramularia areola*. **Phytopathology**, v. 67, n. 3, p. 351-357, 1977.
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; VICENTE, R.; GÓMEZ-ACOSTA, F. A.; MORCUENDE, R.; MONTE, E.; BETTIOL, W. The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 294, 2017.
- SHANMUGAIAH, V.; BALASUBRAMANIAN, N.; GOMATHINAYAGAM, S.; MANOHARAN, P.T.; RAJENDRAN, A. Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth promotion in cotton plants. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 11, p. 1220-1225, 2009.
- SILVA, J. C.; SUASSUNA, N. D.; BETTIOL, W. Management of Ramularia leaf spot on cotton using integrated control with genotypes, a fungicide and *Trichoderma asperellum*. **Crop Protection**, v. 94, p. 28-32, 2017.
- SILVA NETO, S. B.; PEREIRA, A. F.; MORELLO, C. L.; SUASSUNA, N. D. Melhoramento clássico e biotecnologia visando à superação de desafios. In: PICCOLI, G. V.; DANCIN, E.; LOPES, M. A. (Ed.). **Desafios do Cerrado: como sustentar a expansão da produção com produtividade e competitividade**. Cuiabá: AMPA, 2016. p. 215-252.
- SIVAN, A.; CHET, I. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. **Phytopathology**, v. 79, n. 2, p. 198-203, 1989.
- SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Manejo de doenças. In: BORÉM, A.; FREIRE, E. C. (Ed.). **Algodão: do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2014. p. 250-270.
- SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Manejo das principais doenças do algodoeiro no cerrado brasileiro. In: FREIRE, E. C. (Ed.). **Algodoeiro no Cerrado do Brasil**. 3 ed. Brasília, DF: Positiva, 2015. p. 365-408.

- SUASSUNA, N. D.; MORELLO, C. L.; PEDROSA, M. B.; BARROSO, P. A. V.; SILVA, J. L.; SUASSUNA, T. M. F.; PERINA, F. J.; SOFIA-TTI, V.; MAGALHÃES, F. O. C.; FARIAS, F. J. C. BRS 430 B2RF and BRS 432 B2RF: insect resistant and glyphosate-tolerant high-yielding cotton cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 18, n. 2, p. 221-225, 2018.
- SUASSUNA, N. D.; FERREIRA, A. C. B.; MORELLO, C. L.; ARAÚJO, A. E. Incidência e severidade de mofo branco em cultivares de algodoeiro com diferentes densidades populacionais no espaçamento adensado em safrinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 7, 2009, Foz do Iguaçu. **Sustentabilidade da cotonicultura brasileira e expansão dos mercados**: anais. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009a. 1 CD-ROM.
- SUASSUNA, N. D.; MORELLO, C. L.; FERREIRA, A. C. B.; ARAÚJO, A. E. Incidência e severidade de mofo branco em genótipos de algodoeiro cultivados em safrinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 7, 2009, Foz do Iguaçu. **Sustentabilidade da cotonicultura brasileira e expansão dos mercados**: anais. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009b. 1 CD-ROM.
- TJAMOS, E.; PAPAVIDAS, G.; COOK, R. **Biological control of plant diseases**: progress and challenges for the future. New York: Plenum Press, 1992. 462 p.
- VOS, C. M. F.; DE CREMER, K.; CAMMUE, B. P. A.; DE CONINCK, B. The toolbox of *Trichoderma* spp. in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 16, n. 4, p. 400-412, 2015.
- WEINDLING, R. Experimental consideration of the mold toxins of *Gliocladium* and *Trichoderma*. **Phytopathology**, v. 31, p. 991-1003, 1941.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, M.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 71-126, 2014.
- WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 181-185, 2006.
- YAN, Y.; KURAMAE, E. E.; DE HOLLANDER, M.; KLINKHAMER, P. G.; van VEEN, J. A. Functional traits dominate the diversity-related selection of bacterial communities in the rhizosphere. **International Society for Microbial Ecology Journal**, v. 11, n. 1, p. 56-66, 2017.
- 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**, v. 65, n. 3, p. 1061-1070, 1999.
- YORINORI, J. T. Avaliação de perdas. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Resultados de pesquisas de soja 1985/86**. Londrina, 1987. p. 197-222. (Embrapa Soja. Documentos, 20).
- ZHANG, J.; HOWELL, C. R.; STARR, J. L. Suppression of *Fusarium* colonization of cotton roots and Fusarium wilt by seed treatments with *Gliocladium virens* and *Bacillus subtilis*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 6, n. 2, p. 175-187, 1996.

## Uso de *Trichoderma* en el cultivo de papa

*Wilson Story Venancio*

*Robinson Martins Venancio*

*Flávia de Oliveira Marzarotto*

*Vanessa Nathalie Modesto Boratto*

*Eduardo Gilberto Dallago*

*Ibraian Valério Boratto*

El control de enfermedades en papa (*Solanum tuberosum* L.) representa un porcentaje importante en el costo de producción, y muchas veces, si está mal planificado, puede hacer inviable la producción del cultivo. Entre los hongos que destacan por los daños que causan en el cultivo de la papa, se puede mencionar a *Rhizoctonia solani* por su importancia y difícil control, lo que provoca alteraciones que reducen la producción e interfieren en la calidad final.

El hongo *R. solani* es un importante hongo necrotrófico del suelo (Mayo et al., 2015) que persiste en el suelo durante períodos largos, donde producen esclerocios como estructura de supervivencia. Este hongo tiene más de 100 especies que causan daños severos en muchos cultivos agrícolas de importancia económica, así como a especies de árboles en todo el mundo (Druzhinina; Kubicek, 2005). Tiene una amplia distribución geográfica, considerada cosmopolita, actuando como saprófito en el suelo y como fitopatógeno, con numerosas plantas hospedantes y, entre otras enfermedades, provoca el cancro del tallo y descamado de la papa (*Solanum tuberosum* L.) lo que conlleva a la reducción de la producción y pérdidas en la calidad del tubérculo. Tiene catorce grupos de anastomosis genéticamente distintos (AG1 a AG13 y AGB1) con un grado único de especificidad por la planta hospedante y son reproductivamente incompatibles entre sí (Brewer; Larkin, 2005; Chen et al., 2016). Es un hongo que causa enfermedad en plántulas, pudrición de raíces y muerte en pre y postemergencia (Gajera et al., 2016). Cada año, este hongo provoca enormes pérdidas de rendimiento en más de cien especies vegetales (Chen et al., 2016).



El control de *R. solani* es difícil debido a la alta tasa de supervivencia de los esclerocios, su amplio rango de plantas hospedantes y su comportamiento ecológico. Por lo tanto, las estrategias para controlar *R. solani* son limitadas porque ningún cultivar muestra una resistencia completa. Los controles agronómicos como la rotación de cultivos son altamente confiables para combatir esta enfermedad, aunque el hábito polífago de algunos aislados del hongo haría posible el ataque a las especies de cultivos usados en la rotación. También están disponibles productos fungicidas de amplio espectro, pero que tienen alta toxicidad y no son amigables con el medio ambiente. Además, los métodos de control químico pueden no ser viables o económicos para controlar muchos patógenos transmitidos por el suelo. De esta forma, la estrategia de biocontrol ofrece una alternativa ecológicamente correcta para proteger las plantas de estos hongos habitantes del suelo (Abbas et al., 2017). Hay muchos estudios que reportan que el control biológico con el género *Trichoderma* (Teleomorph: *Hypocrea*) es efectivo para el control de *R. solani* (Brewer; Larkin, 2005), promover el crecimiento de las plantas y estimular las respuestas de defensa de las plantas (Druzhinina et al., 2011).

*Trichoderma* spp. son hongos filamentosos típicamente aeróbicos, facultativos y cosmopolitas que pueden ser encontrados en grandes cantidades en suelos agrícolas y en otros sustratos como la madera en descomposición (Druzhinina; Kubicek, 2005). El género *Trichoderma* tiene una notable variedad de estilos de vida e interacciones con *R. solani* y puede utilizarse como control biológico de enfermedades de las plantas (Anees et al., 2011). Las especies del género *Trichoderma* se han utilizado con éxito para el control de fitopatógenos habitantes del suelo, ya que son capaces de proteger a las plantas a través de diferentes mecanismos de acción (micoparasitismo, antibiosis, competencia e inducción de resistencia) y porque colonizan eficientemente el sustrato y el sistema radicular de varias especies de plantas (Harman et al., 2004; Harman, 2006; Woo et al., 2006). Además, este género se encuentra entre los microorganismos más resistentes a toxinas y químicos naturales y sintetizados por el hombre, incluso capaces de degradar algunos de estos compuestos, como hidrocarburos y pesticidas (Harman et al., 2004; Harman, 2006; Woo et al., 2004; Harman, 2006; Woo et al., 2006). Otra característica importante de este género es que muchas de sus cepas producen grandes cantidades de esporas y antibióticos potentes (Woo et al., 2006).

*Trichoderma* spp. y sus metabolitos extracelulares son explotados como agentes de biocontrol o fungicidas biológicos para el control de patógenos de plantas (Vinale et al., 2008). Estos metabolitos incluyen compuestos volátiles y solubles en agua y metabolitos secundarios de bajo peso molecular (Eziashi et al., 2007; Schuster; Schmoll, 2010; Kotasthane et al., 2015). Kotasthane et al. (2015) recolectaron 20 aislamientos de *Trichoderma* de diferentes ubicaciones geográficas y encontraron que, entre todos los aislamientos, un aislado de *Trichoderma viride* (T14) fue identificado como agente con alta capacidad de producir

fosfato inorgánico, AIA y sideróforo, mostrando un alto nivel de antagonismo contra *R. solani* y capacidad para promover el crecimiento de las plantas. La asociación de proteínas de *Trichoderma* spp. están involucradas en la síntesis de metabolitos secundarios deletéreos, llenado, reconocimiento, señalización de la transducción y reprogramación genética de expresión génica, así como en el micoparasitismo de *R. solani* (Abbas et al., 2017). Krishnamurthy et al. (1999) analizaron la capacidad antagonica de treinta y cinco cepas de *T. viride* y *T. harzianum* contra el patógeno *R. solani*, de los cuales, se comprobó la inhibición *in vitro* del crecimiento de este patógeno por acción de la quitinasa. Se analizó el biocontrol de *R. solani* en tomates cultivados en invernadero y en campo utilizando *T. harzianum* donde los autores encontraron menor mortalidad y menores niveles de cancro en las plantas tratadas (Montealegre et al., 2010). França et al. (2015), al evaluar el tizón de la vaina del arroz causado por *R. solani*, observaron una reducción en la severidad de la enfermedad, un aumento en el rendimiento y el peso del grano en plantas tratadas con *T. asperellum*. La marchitez en cultivos de invernadero causado por *R. solani* se controló con una formulación de varias especies de *Trichoderma* evaluadas por Lewis y Lumsden (2001). Veintiocho biocontroladores potenciales fueron evaluados por Brewer y Larkin (2005) debido a su eficacia contra *R. solani*, el hongo *T. virens* fue el que demostró un mejor control del cancro de la papa, sin embargo, los autores sugieren la combinación de biocontroladores para mejores resultados, lo que sugiere que este enfoque puede mejorar la eficacia del biocontrol.

Los mecanismos de control de fitopatógenos presentados por las cepas de *Trichoderma* pueden ser caracterizados en tres tipos; competencia directa por espacio o nutrientes, como se observa en *T. viride* y *T. harzianum* (Montealegre et al., 2010), *T. viride* (Silva et al., 2012), *T. harzianum*, *T. virens* y *T. atroviride* (Tsrör et al., 2001), aislados de *Trichoderma* spp. (Naeimi et al., 2011) y *T. asperellum* (Asad et al., 2014); producción de metabolitos antibióticos de naturaleza volátil o no volátil; y el micoparasitismo directo de ciertas especies de *Trichoderma* en hongos fitopatógenos (Daguerre et al., 2016). Se han clonado varios genes de *Trichoderma* spp. y utilizado contra *R. solani*. El gen *Tvsp1* fue el primer gen aislado de *T. virens*. Este gen fue clonado con éxito para analizar su función y se descubrió que codifica la enzima serina proteasa. Esta serina proteasa se usó para controlar *R. solani* en plántulas de algodón. Se encontró degradación de la pared celular del hongo por la enzima serina proteasa (Pozo et al., 2004).

Para Bellows et al. (1999), en el caso de enfermedades causadas por patógenos de plantas transmitidos por el suelo, el control biológico o biocontrol se refiere a la introducción de organismos que son antagonicos al patógeno o reducen sus efectos, o a un aumento en la densidad o actividad de los organismos antagonicos de origen natural, lo que resulta en una reducción de la gravedad de la enfermedad. Los mecanismos de acción que respaldan el control biológico incluyen la destrucción directa del patógeno (los mecanismos incluyen la

depredación, el micoparasitismo y/o la producción de compuestos antibióticos) o la exclusión del patógeno a través de la competencia por los recursos y la inducción de resistencia en la planta hospedante.

Independientemente de la forma en que se introduzca el biocontrol en el sistema, los mecanismos mediante los cuales se logra la supresión de enfermedades, tradicionalmente se dividen en cuatro categorías generales; competencia, antibiosis, micoparasitismo e inducción de resistencia de las plantas, con la promoción del crecimiento como posible quinto mecanismo de biocontrol indirecto (Handelsman; Stabb, 1996; Hoitink; Boehm, 1999; Bienkowski, 2012). Todos estos mecanismos de acción se han observado en el control de enfermedades causadas por *Rhizoctonia*, como lo detalla Bienkowski (2012).

Considerando la competencia por nutrientes y espacio, un estudio de Weinhold et al. (1972) demostraron que la virulencia de *R. solani* en plántulas de algodón depende del estado nutricional del micelio, demostrando que los hongos mejor nutridos se vuelven más patógenos. Además, Dijst (1988) encontró que *R. solani* AG 3 produjo esclerocios con mayor peso en medios ricos en nutrientes en comparación con medios pobres en nutrientes y sugirió que una mayor incidencia de la costra negra después de la destrucción del tallo puede resultar parcialmente de una mayor exudación de nutrientes por la planta hospedante. Por lo tanto, concluyó que las interacciones que impiden que el patógeno acceda a la nutrición exógena, ya sea del suelo o de los exudados de las plantas, disminuirán su potencial patogénico.

La supresión de enfermedades causadas por *Rhizoctonia* por microorganismos específicos a menudo se atribuye a la producción de metabolitos secundarios, que son directamente tóxicos para el patógeno, conocido como antibiosis (El-Tarabily; Sivasithamparam, 2006; Homma, 1996; Whipps, 2001). Los compuestos involucrados en el biocontrol de *R. solani* son generalmente antibióticos o enzimas que degradan la pared celular del hongo. Se ha demostrado que la capacidad de muchas cepas de rizobacterias para suprimir patógenos de plantas depende de su capacidad para producir metabolitos secundarios que inhiben directamente a los patógenos y estos incluyen antibióticos, sideróforos, bacteriocinas y cianuro (Homma, 1996). Las cepas de *Trichoderma* son estudiadas con frecuencia para el control biológico de enfermedades por *Rhizoctonia* y muchas producen compuestos inhibidores, como 6-pentil-pirona, que inhibe el crecimiento *in vitro* de *R. solani* (Scarselletti; Faull, 1994), trichodermina, un compuesto antimicótico (Bertagnolli et al., 1998) y endoquitinasas y endoproteinasas inhibitorias de *R. solani* (Bertagnolli et al., 1996). De igual manera, sobre la supresión del suelo, Sigüeñas et al (2014) aislaron cuatro especies del género *Trichoderma* en áreas de cultivo de papa en Perú (distrito de Huamachuco). Los autores recolectaron 17 muestras y de estas, 11 contenían especies de *Trichoderma* que correspondieron a: *T. atroviride*, *T. viride*, *T. harzianum* y *T. pseudokonigii*.

Grosch et al. (2006) seleccionaron 390 aislamientos fúngicos en una serie de ensayos *in vitro* e *in vivo* y los primeros seis candidatos para controlar *Rhizoctonia* en plántulas de papa en un experimento de maceta y campo fueron cepas *Trichoderma reesei* y *T. viride*. Coley-Smith et al. (1991) evaluaron otro aislado de *T. viride* mostró el mejor desempeño de los nueve aislados de *Trichoderma* para el control de la pudrición de la lechuga causada por *R. solani*, obteniendo un control equivalente al del fungicida tolchlofos-metil. Beagle-Ristaino y Papavizas (1985) verificaron que las aplicaciones de campo de *T. viride* y *T. virens* redujeron la severidad del cancro del tallo de la papa y la viabilidad de los esclerocios en tubérculos y en el suelo. Las cepas de *T. harzianum* se citan con frecuencia como supresores de enfermedades causadas por *R. solani*, incluido el aislado T-22. Este aislado, T-22, redujo el índice de lesiones precoces causadas por *Rhizoctonia* en experimentos en maceta, aunque el antagonismo disminuyó con el tiempo y redujo la formación de la costra negra en los tubérculos, reduciendo la proporción de tubérculos malformados, de tamaño insuficiente o no (Wilson et al., 2008). Otros aislados de *T. harzianum* redujeron la marchitez del frijol verde (Marshall, 1982) y redujeron la podredumbre negra de la raíz en plantas de fresa con aplicaciones tanto en invernadero como en campo, resultando en mayor productividad (Elad et al., 1981). Otro aislamiento de *T. harzianum* redujo la proporción de plantas de frijol enfermas con *Rhizoctonia* en experimentos de invernadero y de campo, pero el control fue disminuido con el aumento de la temperatura del suelo (Elad et al., 1980). Otra cepa de *T. harzianum* redujo la marchitez de las semillas de algodón tan eficazmente como el fungicida pentacloronitrobenzeno, al igual que una cepa de *T. hamatum* (Elad et al., 1982). Mihuta-Grimm y Rowe (1986) demostraron que otro aislado de *T. hamatum* proporcionó un mejor control de campo de la marchitez del rábano que el pentacloronitrobenzeno.

Como estrategia para el biocontrol, Bienkowski (2012) cita que el micoparasitismo es atractivo en principio, ya que implica la destrucción directa y dirigida del patógeno por parte del agente de biocontrol. Existen numerosas investigaciones que exploran el potencial de los micoparásitos para controlar *R. solani* y algunas de las especies más comúnmente investigadas incluyen *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. viride*, *T. virens*, *Laetaria arvalis*, *Pythium nunn*, *Gliocladium roseum*, *Verticillium biguttatum* y *Stachybotrys elegans* (Boogert, 1996). Existen algunos problemas con respecto al micoparasitismo, lo que limita la aplicación de este modo de acción, como se ha visto para *V. biguttatum* que ha recibido mucha atención como agente potencial de control biológico de *R. solani* en papa, a pesar de ser un agente que depende de *R. solani* para su desarrollo natural (Boogert; Luttikholt, 2004; Boogert et al., 1990; Morris et al., 1995). El rango ecológico de *V. biguttatum* es más restringido que el de *R. solani*, por lo que su planta hospedante puede escapar a la infección. El biocontrol de la marchitez causada por *Rhizoctonia* en rábano a través del uso de un aislado de *Trichoderma hamatum*

se ha reducido por la presencia de hongos termófilos en un contenedor con corteza de madera, posiblemente porque los hongos termófilos constituyeron un objetivo alternativo para el micoparasitismo (Chung y Hoitink, 1990). Por lo tanto, si las condiciones ambientales no son favorables o si existen hospedantes alternativos, es poco probable que el micoparasitismo suprima eficientemente al patógeno.

La inducción de resistencia también fue abordada por Bienkowski (2012), al citar el trabajo de Lehtonen et al (2008), donde se demostró que las plantas de papa responden a la infección por cepas virulentas de *R. solani* mediante la activación sistémica de una serie de genes de defensa, incluyendo las enzimas de hidrólisis de quitina, 1,3, - $\beta$ -glucanasa, que están involucradas en la hidrólisis de las paredes celulares del hongo, lo cual disminuye la probabilidad de infección subsiguiente de los tallos de la parte aérea. Otros organismos no patógenos que activan las mismas vías pueden disminuir las enfermedades promovidas por *Rhizoctonia* en papa. Cardinale et al. (2006) demostraron que la marchitez del rábano causado por *Rhizoctonia* fue reducido por una cepa hipovirulenta de *R. solani*, la cual fue capaz de inducir la resistencia sistémica y competir por espacio y nutrientes con una cepa virulenta de *R. solani*. Este enfoque también ha sido demostrado para el control de enfermedades causadas por *Rhizoctonia* y manchas foliares en maíz (Pascual et al., 2000).

Por su parte, *T. atroviride* ha demostrado inhibir, en condiciones de laboratorio, el crecimiento micelial de *R. solani*, uno de los patógenos más importantes que se transmiten a través del suelo, cuyo control implica normalmente el uso de productos químicos, lo que conduce a un aumento en los costos de producción y efectos adversos en la salud humana y animal. Además, los patógenos pueden desarrollar resistencia a los productos químicos, lo que aumenta el desafío de proteger las plantas (Carisse et al, 2001; Grenville-Briggs et al., 2008; Lahlali; Hijri, 2010).

La principal causa de la actividad de biocontrol de *Trichoderma* está relacionada con la producción de quitinasas que desintegran la pared celular de los hongos fitopatógenos (Anand; Jayarama, 2009). Matroudi et al. (2009) probaron 30 aislamientos de *Trichoderma* y se basaron en el nivel máximo de quitinasa, lo que indica que *T. atroviride* puede usarse como agente de control biológico en el campo contra *Sclerotinia sclerotiorum*. Woo y Lorito (2007) señalan que varias especies de *Trichoderma* son antagonistas de patógenos de plantas. Se sabe que estas especies producen diferentes tipos de enzimas que degradan la pared celular (CWDE) y cientos de antibióticos y compuestos bioactivos que aún no están caracterizados. *Trichoderma* spp. producen abundantes compuestos biológicamente activos, incluidos las CWDE y metabolitos secundarios que ayudan a reducir los efectos nocivos de los fitopatógenos y también promueven respuestas positivas en las plantas (Munir et al., 2013). Estos hongos producen una mezcla de enzimas que incluyen  $\beta$ -1,3-glucanasas y quitinasas que son de

naturaleza antifúngica. Ambas enzimas antifúngicas cooperan entre sí durante la actividad antagonista y también con otras enzimas relacionadas. Limon et al. (2004) encontraron que *T. harzianum* es un hongo antagonista comúnmente disperso en el medio ambiente, generalmente correlacionado con enzimas antifúngicas quitinasas que degradan las paredes celulares del hongo. Las enzimas quitinasas producidas por *T. harzianum* juegan un papel importante en la actividad antagonista e indican que las enzimas quitinolíticas dan como resultado la hidrólisis de la pared celular del hongo, la cual contiene quitina. Thrane et al. (2000) estudiaron dos aislados del antagonista *Trichoderma* spp., P1 y T3, que producían diferentes tipos de enzimas líticas en cultivo líquido. La combinación de los dos aislamientos resultó en una actividad más baja que cada aislamiento probado solo y no hubo diferencias significativas entre estos dos aislamientos con respecto a la capacidad de proteger las plántulas de pepino contra *P. ultimum*. El micelio fresco y seco del hongo patógeno *S. rolfisii* fue fácilmente hidrolizado por las enzimas quitinasa y  $\beta$ -1,3-glucanasa presentes en el filtrado del cultivo de *T. harzianum* y estas enzimas redujeron el crecimiento de *S. rolfisii*.

Lucón et al. (2009) seleccionaron e identificaron aislados de *Trichoderma* spp. para el control del *damping-off* causado por *Rhizoctonia solani* (AG-4) en plántulas de pepino (*Cucumis sativus* L.), además de evaluar el efecto del aumento de la concentración y las combinaciones de los aislados más eficientes en el control de la enfermedad. Los experimentos se realizaron en invernadero con 490 aislamientos. Se evaluó la marchitez de las plántulas una semana después de la aplicación a la base de las plántulas de sustrato infestado con antagonista (1%) y patógeno (1%). Los doce aislamientos que proporcionaron más del 85% de reducción de la enfermedad se probaron en concentraciones crecientes para el control de patógenos (1%): 0,5; 1; 2; 3 y 4%. También se evaluó el efecto de las combinaciones de los cinco aislamientos más promisorios. De los 490 aislamientos probados, 44 (9%) redujeron el *damping off*. Las concentraciones de antagonista superiores a 2% fueron las más eficaces para controlar la enfermedad. Solo dos combinaciones dieron como resultado un mayor control de la enfermedad. Los aislamientos más efectivos fueron identificados como *T. hamatum* (IB08, IB30, IB60), *T. harzianum* (IB34, IB35), *T. atroviride* (IB13), *T. spirale* (IB16, IB24) y *T. asperellum* (IB44).

Los productores de papa, al igual que otros agricultores, tienen una gran responsabilidad en el mantenimiento de la salud de sus cultivos. Particularmente, el cultivo de la papa presenta problemas fitosanitarios muy serios, en especial aquellos relacionados con enfermedades como el tizón tardío y la mancha negra, que al ser consideradas epidémicas requieren constante atención para su manejo, por lo que cualquier descuido comprometería su manejo y esto se reflejaría en la producción, lo que crea una cierta dependencia del manejo con productos

químicos, lo que hace que parte o la totalidad de la responsabilidad sobre la sanidad de los cultivos recaiga en el correcto uso de estos productos. En cierto modo, esta filosofía de acción ha impedido la adopción de otros métodos de control, como el uso del control biológico, manteniendo su atención en los principales problemas del cultivo. Esta revisión permite observar que no sólo existen otros problemas, que pueden ser agravados por la falta de un manejo adecuado, sino que los principales problemas pueden ser paliados por la adecuación de otras técnicas. La introducción de biocontroladores en el manejo de hongos necrotróficos, mejorando la biota del suelo, permitirá también reducir el inóculo de importantes patógenos en áreas destinadas al cultivo de papa.

## Referencias

- ABBAS, A.; JIANG, D.; FU, Y. *Trichoderma* spp. as antagonist of *Rhizoctonia solani*. **Journal of Plant Pathological Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 402-441, 2017.
- ANAND, S.; JAYARAMA, R. Biocontrol potential of *Trichoderma* sp. against plant pathogens. **International Journal of Agriculture Sciences**, v. 1, n. 2, p. 30-39, 2009.
- ANES, M.; TRONSMO, A.; EDEL-HERMANN, V.; HJELJORD, L. G.; HÉRAUD, C.; STEINBERG, C. Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. **Fungal Biology**, v. 114, n. 9, p. 691-701, 2011.
- ASAD, S. A.; ALI, N.; HAMEED, A.; KHAN, S. A.; AHMAD, R.; BILAL, M.; SHAHZAD, M.; TABASSUM, A. Biocontrol efficacy of different isolates of *Trichoderma* against soil borne pathogen *Rhizoctonia solani*. **Polish Journal of Microbiology**, v. 63, n. 1, p. 95-103, 2014.
- BEAGLE-RISTAINO, J. E.; PAPAIVIZAS, G. C. Biological control of *Rhizoctonia* stem canker and black scurf of potato. **Phytopathology**, v. 75, n. 5, p. 560-564, 1985.
- BELLOWS, T. S. Controlling soil-borne plant pathogens. In: BELLOWS, T. S.; FISHER, T. W. (Eds.). **Handbook of Biological Control: principles and applications of biological control**. San Diego: Academic Press, 1999. p. 699-712.
- BERTAGNOLLI, B. L.; DALSOGLIO, F. K.; SINCLAIR, J. B. Extracellular enzyme profiles of the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* isolate 2B-12 and of two antagonists, *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 and *Trichoderma harzianum* isolate Th008. I. Possible correlations with inhibition of growth and biocontrol. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 48, n. 3, p. 145-160, 1996.
- BERTAGNOLLI, B. L.; DALY, S.; SINCLAIR, J. B. Antimycotic compounds from the plant pathogen *Rhizoctonia solani* and its antagonist *Trichoderma harzianum*. **Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift**, v. 146, n. 2-3, p. 131-135, 1998.
- BIENKOWSKI, D. **Biological control of *Rhizoctonia* diseases of potato**. 2012. 183 f. Thesis (Doctor of Philosophy) – Lincoln University, Christchurch.
- BOOGERT, P. H. J. F. Mycoparasitism and biocontrol. In: SNEH, B.; JABAJIHARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Ed.). ***Rhizoctonia* Species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. p. 485-493.
- BOOGERT, P. H. J. F.; JAGER, G.; VELVIS, H. *Verticillium biguttatum*, an Important Mycoparasite for the Control of *Rhizoctonia solani* in Potato. In: HORNBY, D. (Ed.). **Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens**. Wallingford: CABI, 1990. p. 77-91.
- BOOGERT, P. H. J. F.; LUTTIKHOLT, A. J. G. Compatible biological and chemical control systems for *Rhizoctonia solani* in potato. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, n. 2, p. 111-118, 2004.
- BREWER, M. T.; LARKIN, R. P. Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. **Crop Protection**, v. 24, p. 939-950, 2005.



- CARDINALE, F.; FERRARIS, L.; VALENTINO, D.; TAMIETTI, G. Induction of systemic resistance by a hypovirulent *Rhizoctonia solani* isolate in tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 69, n. 4, p. 160-171, 2006.
- CARISSE, O.; EL BASSAM, S.; BENHAMOU, N. Effect of *Microspheeropsis* sp. Strain P130A on germination and production of sclerotia of *Rhizoctonia solani* and interaction between the antagonist and the pathogen. **Phytopathology**, v. 91, n. 8, p. 782-791, 2001.
- CHEN, L., AI, P.; ZHANG, J.; DENG, Q.; WANG, S.; LI, S.; ZHU, J.; LI, P.; ZHENG, A. RSIADB, a collective resource for genome and transcriptome analyses in *Rhizoctonia solani* AG1 IA. **Database: The Journal of Biological Databases and Curation**, v. 2016, baw 031, 2016. DOI: 10.1093/database/baw031.
- CHUNG, Y. R.; HOITINK, H. A. J. Interactions between thermophilic fungi and *Trichoderma hamatum* in suppression of *Rhizoctonia* damping-off in a bark compost amended container medium. **Phytopathology**, v. 80, n. 1, p. 73-77, 1990.
- COLEY-SMITH, J. R.; RIDOUT, C. J.; MITCHELL, C. M.; LYNCH, J. M. Control of bottom rot disease of lettuce (*Rhizoctonia solani*) using preparations of *Trichoderma viride*, *T. harzianum* or tolclofos-methyl. **Plant Pathology**, v. 40, n. 3, p. 359-366, 1991.
- DAGUERRE, Y.; EDEL-HERMANN, V.; STEINBERG, C. Fungal genes and metabolites associated with the biocontrol of soil-borne plant pathogenic fungi. In: MÉRILLON, J.M.; RAMAWAT, K. (Ed.). **Fungal Metabolites**. Cham: Springer International Publishing, 2016. E-book. DOI: 10.1007/978-3-319-19456-1\_27-1.
- DIJST, G. Formation of sclerotia by *Rhizoctonia solani* on artificial media and potato tubers. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 94, n. 5, p. 233-242, 1988.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERIEE, P. K.; ZEHLINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: The genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 12, p. 896-906, 2011.
- DRUZHININA, I.; KUBICEK, C. P. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters? **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 6, n. 2, p. 100-112, 2005.
- ELAD, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. Biological control of *Rhizoctonia solani* in strawberry fields by *Trichoderma harzianum*. **Plant and Soil**, v. 60, n. 2, p. 245-254, 1981.
- ELAD, Y.; CHET, I.; KATAN, J. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 70, n. 2, p. 119-121, 1980.
- ELAD, Y.; KALFON, A.; CHET, I. Control of *Rhizoctonia solani* in cotton by seedcoating with *Trichoderma* spp. spores. **Plant and Soil**, v. 66, n. 2, p. 279-281, 1982.
- EL-TARABLY, K. A.; SIVASITHAMPARAM, K. Non-Streptomycete Actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 38, n. 7, p. 1505-1520, 2006.
- EZIASHI, E. I.; OMAMOR, I. B.; DIMARO-ORUADE, E. A.; OGUNKANMI, L. A. Control of phytotoxin from *Ceratocystis paradoxa* using *Trichoderma* species phytotoxins on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) sprouted seeds. **Plant Pathology Journal**, v. 6, n. 4, p. 324-329, 2007.
- FRANÇA, S. K. S.; CARDOSO, A. F.; LUSTOSA, D. C.; RAMOS, E. M. L. S.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Biocontrol of sheath blight by *Trichoderma asperellum* in tropical lowland rice. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, n. 1, p. 317-324, 2015.
- GAJERA, H. P.; HIRPARA, D. G.; KATAKPARA, Z. A.; PATEL, S. V.; GOLAKIYA, B. A. Molecular evolution and phylogenetic analysis of biocontrol genes acquired from SCO-T polymorphism of mycoparasitic *Trichoderma koningii* inhibiting phytopathogen *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 45, p. 383-392, 2016.
- GRENVILLE-BRIGGS, L. J.; ANDERSON, V. L.; FUGELSTAD, J.; AVROVA, A. O.; BOUZENZANA, J.; WILLIAMS, A.; WAWRA, S.; WHISSON, S. C.; BIRCH, P. R.; BULONE, V.; WEST, P. Cellulose synthesis in *Phytophthora infestans* is required for normal appressorium formation and successful infection of potato. **Plant Cell**, v. 20, n. 3, p. 720-738, 2008.
- GROSCH, R.; SCHERWINSKI, K.; LOTTMANN, J.; BERG, G. Fungal antagonists of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*: selection, control efficacy and influence on the indigenous microbial community. **Mycological Research**, v. 110, p. 1464-1474, 2006.



- HANDELSMAN, J.; STABB, E. V. Biocontrol of soilborne plant pathogens. **Plant Cell**, v. 8, n. 10, p. 1855-1869, 1996.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Natural Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HOITINK, H. A. J.; BOEHM, M. J. Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon. **Annual Review of Phytopathology**, v. 37, p. 427-446, 1999.
- HOMMA, Y. Antibiotics and siderophore producing bacteria. In: SNEH, B.; JABAJIHA JABAJIHARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Ed.). **Rhizoctonia Species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. p. 445-453.
- KOTASTHANE, A.; AGRAWAL, T.; KUSHWAH, R.; RAHATKAR, O. V. In-vitro antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter gourd. **European Journal Plant Pathology**, v. 141, n. 3, p. 523-543, 2015.
- KRISHNAMURTHY, J.; SAMIYAPPAN, R.; VIDHYASEKARAN, P.; NAKKEERAN, S.; RAJESWARI, E. Efficacy of *Trichoderma* chitinases against *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. **Journal Biosciences**, v. 24, n. 2, p. 207-213, 1999.
- LAHLALI, R.; HJIRI, M. Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Rhizoctonia solani* AG3 on potato plants. **FEMS Microbiol Lett**, v. 311, p. 152-159, 2010.
- LEHTONEN, M. J.; SOMERVUO, P.; VALKONEN, J. P. T. Infection with *Rhizoctonia solani* induces defense genes and systemic resistance in potato sprouts grown without light. **Phytopathology**, v. 98, n. 11, p. 1190-1198, 2008.
- LEWIS, J. A.; LUMSDEN, R. D. Biocontrol of damping-off of greenhouse-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v. 20, n. 1, p. 49-56, 2001.
- LIMON, M. C.; CHACON, M. R.; MEJIAS, R.; DELGADO-JARANA, J.; RINCON, A. M.; CODOÓN, A. C.; BENITEZ, T. Increased antifungal and chitinase specific activities of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 by addition of a cellulose binding domain. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, n. 5, p. 675-685, 2004.
- LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M.; ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R. A.; HARAKAVA, R. Bioprospeção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 225-232, 2009.
- MARSHALL, D. S. Effect of *Trichoderma harzianum* seed treatment and *Rhizoctonia solani* inoculum concentration on damping-off of snap bean in acidic soils. **Plant Disease**, v. 66, n. 9, p. 788-789, 1982.
- MATROUDI, S.; ZAMANI, M. R.; MOTALLEBI, M. Antagonistic effects of three species of *Trichoderma* sp. on *Sclerotinia sclerotiorum*, the causal agent of canola stem rot. **Egyptian Journal of Biology**, v. 11, p. 37-44, 2009.
- MAYO, S.; GUTIERREZ, S.; MALMERCA, M. G.; LORENZANA, A.; CAMPELO, M. P.; CASQUERO, P. A. Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. in growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, article 685, 2015.
- MIHUTA-GRIMM, L.; ROWE, R. C. *Trichoderma* spp. as biocontrol agents of *Rhizoctonia* damping-off of radish in organic soil and comparison of four delivery systems. **Phytopathology**, v. 76, n. 3, p. 306-312, 1986.
- MONTEALEGRE, J.; VALDERRAMA, L.; SÁNCHEZ, S.; HERRERA, R.; BESOAIN, X.; PÉREZ, L. M. Biological control of *Rhizoctonia solani* in tomatoes with *Trichoderma harzianum* mutants. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 2, p. 1-2, 2010.
- MORRIS, R. A. C.; COLEYSMITH, J. R.; WHIPPS, J. M. The ability of the mycoparasite *Verticillium biguttatum* to infect *Rhizoctonia solani* and other plant pathogenic fungi. **Mycological Research**, v. 99, n. 8, p. 997-1003, 1995.
- MUNIR, S.; JAMAL, Q.; BANO, K.; SHERWANI, S. K.; BOKHARI, T. Z.; KHAN, T. A.; KHAN, R. A.; JABBAR, A.; ANEES, M. Biocontrol ability of *Trichoderma*. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 6, n. 18, p. 1246-1252, 2013.
- NAEIMI, S.; OKHOVAT, S. M.; JAVAN-NIKKHAH, M.; VÁGVÖLGYI, C.; KHOSRAVI, V.; KREDICS, L. Biological control of *Rhizoctonia solani* AG1-1A, the causal agent of rice sheath blight with *Trichoderma* strains. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 49, n. 3, p. 287-300, 2011.

- PASCUAL, C. B.; RAYMUNDO, A. D.; HYAKUMACHI, M. Efficacy of hypovirulent binucleate *Rhizoglyphia* sp. to control banded leaf and sheath blight in corn. **Journal of General Plant Pathology**, v. 66, n. 1, p. 95-102, 2000.
- POZO, M. J.; BAEK, J. M.; GARCIA, J. M.; KENERLEY, C. M. Functional analysis of tvsp1, a serine protease-encoding gene in the biocontrol agent *Trichoderma virens*. **Fungal Genetics Biology**, v. 41, n. 3, p. 336-348, 2004.
- SCARSELLETTI, R.; FAULL, J. L. In vitro activity of 6-pentyl-alpha-pyrone, a metabolite of *Trichoderma harzianum*, in the inhibition of *Rhizoglyphia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lyopersici*. **Mycological Research**, v. 98, p. 1207-1209, 1994.
- SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 787-799, 2010.
- SIGÜENAS, J. A.; ANGULO, R. C.; CRUZ, S. C.; VALVERDE, J. D.; PUELLES, C. M.; ESPINOZA, G. A.; RÍOS, M. M. *Trichoderma* species isolated of *Solanum tuberosum* soil cultivation from Huamachuco, Perú. 2012. **REBIOL**, v. 34, n. 2, p. 38-43, 2014.
- SILVA, J. C.; TORRES, D. B.; LUSTOSA, D. C.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B. Biocontrole de queima da bainha em arroz e promoção de crescimento por *Trichoderma* isolados da região Amazônica. **Revista de Ciências Agrárias – Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Science**, v. 55, n. 4, p. 243-250, 2012.
- THRANE, C.; JENSEN, D. F.; TRONSMO, A. Substrate colonization, strain competition, enzyme production in vitro, and biocontrol of *Pythium ultimum* by *Trichoderma* spp. Isolates P1 and T3. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, n. 3, p. 215-225, 2000.
- TSROR, L.; BARAK, R.; SNEH, B. Biological control of black scurf on potato under organic management. **Crop Protection**, v. 20, n. 2, p. 145-150, 2001.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. **Soil Biology and Biocemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.
- WEINHOLD, A. R.; DODMAN, R. L.; BOWMAN, T. Influence of exogenous nutrition on virulence of *Rhizoglyphia solani*. **Phytopathology**, v. 62, n. 2, p. 278-281, 1972.
- WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.
- WILSON, P. S.; KETOLA, E. O.; AHVENNIEMI, P. M.; LEHTONEN, M. J.; VALKONEN, J. P. T. Dynamics of soilborne *Rhizoglyphia solani* in the presence of *Trichoderma harzianum*: effects on stem canker, black scurf and progeny tubers of potato. **Plant Pathology**, v. 57, n. 1, p. 152-161, 2008.
- WOO, S. L.; LORITO, M. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In: VURRO, M.; GRESSEL, J. (Ed.). **Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management**. Amsterdam: IOS: Springer Press, 2007. p. 107-130.
- WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 181-185, 2006.



# Uso de *Trichoderma* en el cultivo de frijol común

*Murillo Lobo Junior*

*Tariane Alves Machado-Rosa*

*Alaerson Maia Geraldine*

## Introducción

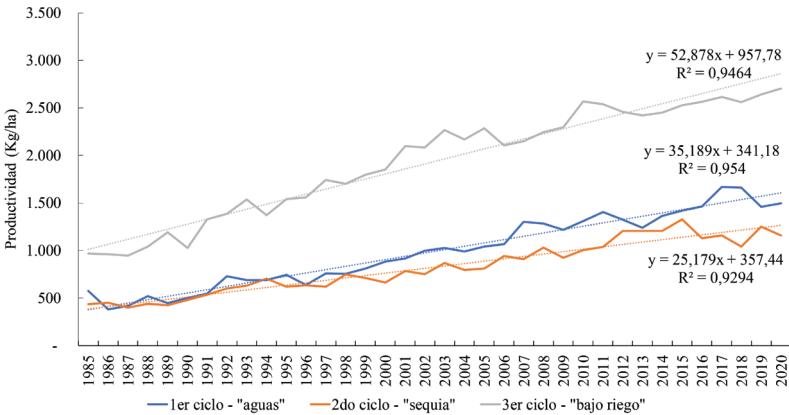
En Brasil, el tamaño del país, la amplia gama de especies cultivadas y sus respectivos problemas fitosanitarios han abierto innumerables posibilidades para el desarrollo de la aplicación del control biológico. El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) ha sido directamente beneficiado por la disponibilidad de bioproductos a base de *Trichoderma* spp. y otros microorganismos beneficiosos. A pesar de que el cultivo tiene, en promedio, un ciclo relativamente corto, en torno a los 90 días, esta especie está sujeta al ataque de una serie de patógenos de importancia económica, muchos de los cuales son controlados de forma insatisfactoria por los fungicidas sintéticos tradicionales y la resistencia genética.

Estas dificultades en el manejo fitosanitario del cultivo crearon condiciones para la adopción del control biológico, en sus diversas formas. Las acciones de biocontrol realizadas en Brasil y en el exterior generalmente se ocupan del uso de antagonistas específicos para controlar un patógeno específico, bajo la estrategia de control biológico aumentativo (Cruz, 2002), donde se busca aumentar la población de enemigos naturales por propagación y liberación o por manipulación ambiental. El control biológico aumentativo incluye prácticas agronómicas tradicionalmente realizadas para aumentar el número o el efecto de los antagonistas, como el tratamiento de semillas y aplicaciones dirigidas al surco de siembra o aplicaciones con barras de aspersión. Existen diferentes formas de inocular microorganismos benéficos o liberarlos periódicamente de forma inundativa, para controlar el patógeno objetivo. Entre las decenas de hongos y bacterias que pueden ser utilizados en biocontrol, varias especies pertenecientes al género *Trichoderma* se destacan entre los antagonistas más eficientes (Harman, 2000).

El control biológico también se puede lograr a través de la estrategia de “conservación”, donde existe un interés en preservar o aumentar las poblaciones de enemigos naturales mediante la manipulación o el manejo del agroecosistema. El biocontrol de enfermedades por “conservación” aparentemente está menos investigado que los métodos de inundación, pero es el resultado visible de prácticas de agricultura conservacionistas como el Sistema de Labranza Directa y la integración cultivo-ganadería. En este enfoque pueden incluirse estudios de impacto ambiental y supervivencia de los antagonistas después de su aplicación, según su interacción con las comunidades de microorganismos del suelo y los diferentes patógenos que coexisten en los sistemas de producción.

### Escenario de producción de frijol común en Brasil y sus enfermedades

Desde 2009 a 2019, hubo una caída en el área cultivada con frijol común en Brasil de 4,5 a 3,0 millones de hectáreas (Conab, 2019) y, en contraste, un aumento en la productividad promedio en los tres diferentes ciclos del cultivo (Figura 1). El uso de cultivares más productivos, la disponibilidad de nuevos insumos y avances en el manejo del cultivo son los principales factores responsables de la mayor productividad promedio, pero, a su vez, la intensificación del cultivo desencadenó el aumento de los problemas fitosanitarios. Con la intensificación de cultivos donde la planta de frijol se rota con uno o dos cultivos anuales más (a menudo soja y maíz), ha ocurrido un aumento de la presión de enfermedades en el campo. En los sistemas de producción de secano o riego, existen condiciones favorables para el desarrollo de un complejo de patógenos con una amplia gama de plantas hospedantes, que además son capaces de sobrevivir en el suelo, lo que puede hacer inviable el cultivo de frijol común.

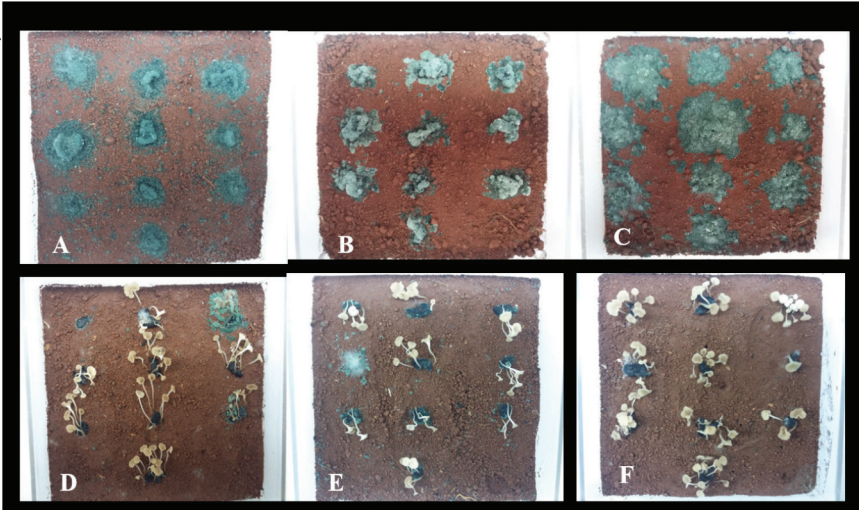


**Figura 1.** Evolución de la productividad promedio de frijol común en tres ciclos de cultivo, desde 1985 a 2017. Fuente: CONAB y Embrapa Arroz y Frijol.

Las enfermedades como la pudrición blanca causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary y enfermedades de raíces causadas por complejos de especies de *Fusarium oxysporum* Schldl. y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., además de *Rhizoctonia solani* Kuhn son las principales enfermedades de la raíz en el frijol común, las cuales pueden ser mejor manejadas con la inclusión de agentes de biocontrol. Otras enfermedades como la pudrición de la raíz, la pudrición gris del tallo y los nematodos también provocan pérdidas de productividad y son controlables por bioagentes, pero aún existen pocos estudios sistemáticos sobre su manejo con antagonistas en este cultivo.

A pesar de los beneficios en la productividad y de la oferta de tecnologías e insumos, el desarrollo de estos sistemas productivos no ha estado acompañado de una reducción de los riesgos. En particular, los sistemas de riego por pivote central representan los casos más conocidos de acumulación de varios patógenos y plagas, beneficiados por la humedad proporcionada por el riego y por el “puente verde” formado por la sucesión de cultivos hospedantes. Entre los problemas casi omnipresentes, principalmente en el Centro-Sur del país, se destaca la pudrición blanca, siendo *S. sclerotiorum* una “plaga” no cuarentenaria reglamentada para los cultivos de frijol común, soja, algodón y girasol (Brasil, 2004) y que ocurre en más de 400 especies de plantas hospedantes (Boland; Hall, 1994). La pudrición blanca puede, en los casos más severos, matar las plantas afectadas, causando la pérdida total de la cosecha y haciendo que las áreas infestadas sean económicamente inviables. Solo para su control mediante el uso de productos químicos en frijol común, se estima que el costo adicional con fungicidas alcanza R\$ 650,00 ha<sup>-1</sup> y que, además, su eficiencia en áreas con más de 19 esclerocios m<sup>-2</sup> es limitada (Costa, 1997). La dependencia de fungicidas específicos para el control de la pudrición blanca junto con pérdidas en la producción llegó a más de R\$ 33 millones, sólo en el cultivo de frijol bajo riego en Goiás (Ricardo et al., 2008).

La pudrición blanca es una enfermedad monocíclica y la reducción del inóculo inicial (esclerocios) en el suelo por hongos y bacterias constituye un factor crucial para su control (Bae; Knudsen, 2007; Zachow et al., 2011; Zeng et al., 2012b; Geraldine et al., 2013). Los resultados más evidentes del control biológico de la pudrición blanca son la reducción del banco de esclerocios en el suelo (Figura 2), menor severidad de la enfermedad y aumento en los rendimientos del cultivo. El control químico también es beneficiado por la reducción del inóculo inicial, lo que lleva a un mejor control de la enfermedad. Estos resultados aumentan la confiabilidad del biocontrol y favorecen su inserción en el manejo integrado de la enfermedad.

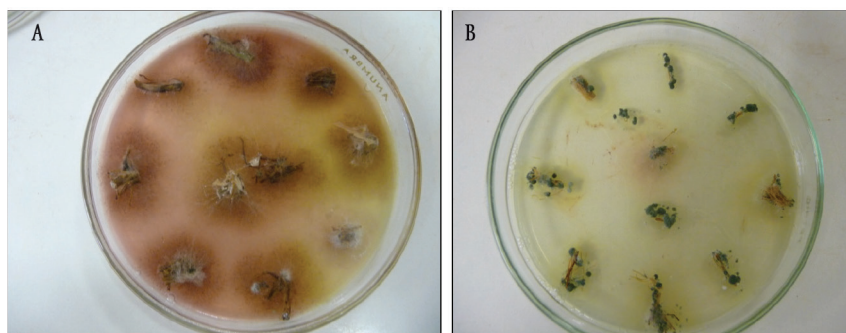


**Figura 2.** Diferencias entre *Trichoderma* spp. eficientes (A, B, C) e ineficientes (D, E) en el micoparasitismo de esclerocios de *S. sclerotiorum*. F = control sin tratamientos.

En las zonas bajo riego también destacan otros patógenos que habitan en el suelo, como los hongos *F. solani* y *R. solani* y varios fitonematodos, que provocan daños en el eje principal y pudriciones en las raíces primarias. Estas especies están presentes, respectivamente, en el 100% y 48% de los cultivos de frijol común en la Región Centro Oeste (Lobo Jr.; Louzada, 2005). Con la pérdida de las raíces primarias, las plantas no son capaces de absorber adecuadamente los nutrientes y el agua, volviéndose atrofiadas o dependientes de una fertilización y riego más intensivos, para compensar solo parcialmente este complejo de enfermedades responsables de una pérdida potencial de más del 40% de la productividad (Lobo hijo, 2005).

*Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* y *F. solani* forman clamidosporas como estructuras de resistencia. Los patógenos como *M. phaseolina* y *R. solani* tienen microesclerocios, que pueden sobrevivir en el suelo durante varios años. Las clamidosporas y los esclerocios pueden estar en la superficie o debajo del suelo, lo que dificulta la acción de los fungicidas. Estos patógenos también pueden propagarse a través de semillas e implementos agrícolas infestados, lo que facilita su dispersión a larga distancia. Tanto *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. solani* y *R. solani* sobreviven indefinidamente en el suelo, por colonización de la materia orgánica muerta. Este complejo de patógenos de raíces reduce la eficiencia del uso de nutrientes y aumenta los costos de producción, provocando la reducción de la rentabilidad de los cultivos. Las consecuencias de estas pérdidas afectan, además del productor, a los agronegocios, a los consumidores y al medio ambiente.

El control biológico se utiliza para reducir el inóculo inicial y proteger las raíces de la pudrición. En los patosistemas discutidos aquí, este método se caracteriza por el uso de antagonistas que parasitan las estructuras de resistencia y las hifas, y por la protección de las plantas a través de la colonización del sistema radicular, la rizocompetencia (Figura 3). El método se puede combinar con el manejo integrado de la pudrición blanca, incluso para reducir la dependencia del uso de fungicidas sintéticos en la agricultura convencional.



**Figura 3.** Colonización de las raíces de frijol común por *Fusarium solani* (A) y por *Trichoderma* spp. (B), en tratamientos cultivados en el mismo sustrato infestado por el patógeno.

### **Trichoderma como agente de biocontrol**

La capacidad de las especies del género *Trichoderma* para controlar enfermedades de las plantas fue descubierta en la década de 1930 por Weindling (1932) y, en los años siguientes, se realizaron cientos de estudios que demostraron el potencial de este género en el control biológico. El género *Trichoderma* tiene una amplia distribución en suelos de todo el mundo, en casi todos los tipos de suelos. Este hongo suele ser agresivo en la competencia por los nutrientes y los exudados de las plantas (Samuels, 2004). También se puede observar su presencia sobre restos vegetales colonizados por patógenos, lo que confirma su carácter parasitario y su potencial como agente de biocontrol.

Las especies de *Trichoderma* tienen varias características que favorecen su supervivencia en el suelo, así como también los hace ventajosos como agentes de biocontrol. Son saprofitos, con una capacidad de colonización rápida del sustrato (Figura 4), tienen requerimientos nutricionales mínimos; producen clamidosporas, que son estructuras de resistencia para sobrevivir en condiciones climáticas adversas; producen sustancias tóxicas (antibióticos), así como enzimas degradadoras de la pared celular de otros hongos (quitinasas, glucanasas, entre otras) y también son capaces de degradar diversos carbohidratos estructurales y no estructurales (Geraldine et al., 2013; Troian et al., 2014).





Foto: Marijke Lobo Jansz

**Figura 4.** Colonización del pasto por *Trichoderma* spp. en un suelo cultivado bajo un sistema de labranza cero.

Existen más de 250 especies conocidas dentro del género *Trichoderma* (Bissett et al., 2015), pero algunas de ellas, como *T. harzianum* y *T. asperellum*, habitantes naturales de los suelos, son las más utilizadas para el biocontrol. Estas especies también promueven la inducción de las defensas de la planta contra diversos patógenos (Howell, 2003) y el crecimiento de las plantas a través de la síntesis de fitohormonas como el ácido indol-3-acético (IAA).

*Trichoderma* es el agente de biocontrol más estudiado en el mundo (Lorito et al., 2010), debido a sus diferentes mecanismos de acción, con cientos de estudios que avalan su eficacia en el control biológico y en la promoción del crecimiento de la planta. En Brasil, el número de productos comerciales a base de *Trichoderma* registrados legalmente en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento (Mapa) ha crecido, sin embargo, ún es limitado. Por lo tanto, existe la necesidad de realizar estudios sistematizados con el objetivo de explorar la diversidad de este antagonista en los suelos brasileños, con el fin de prospectar nuevas cepas con alta eficiencia en la promoción del crecimiento de las plantas y el biocontrol de enfermedades.

Según Samuels y Hebbar (2015), los aislados de *T. harzianum*, solos o en combinación con otras especies de *Trichoderma* o adyuvantes químicos, han sido utilizados para el control de enfermedades. En una encuesta realizada por Bettiol y Morandi (2009), se identificaron 13 empresas que producían y comercializaban *Trichoderma*. En esta revisión, los autores señalaron que los patógenos-objetivo de los productos hechos a base de *Trichoderma* incluyen: *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Macrophomina* spp., *Botrytis* spp., *Crinipellis*

spp. y *S. sclerotiorum*, principalmente para frijol común, soja, algodón, fresa, cebolla, ajo, plantas ornamentales y cacao. La oferta de biofungicidas y nematocidas microbiológicos fue facilitada a partir de 2013, con la autorización por parte del MAPA para el registro de nuevos productos para cada objetivo biológico. Actualmente existen varias opciones para el control de hongos y nematodos que afectan al frijol común, con predominio de *T. harzianum* y *T. asperellum* para el control de hongos patógenos, como se describe en el capítulo 2.

Los mecanismos de acción de *Trichoderma* spp. pueden actuar sinérgicamente y dependen del aislamiento, el patógeno objetivo, el cultivo agrícola y las condiciones ambientales, como la disponibilidad de nutrientes, el pH, la temperatura y la humedad. Varias especies de *Trichoderma* se encuentran comúnmente en la rizosfera, que comprende la zona de influencia del suelo que rodea las raíces. Las raíces secretan compuestos que atraen a numerosos microorganismos, incluidos antagonistas y fitopatógenos. La disponibilidad de nutrientes derivados de los exudados de las raíces y la variedad de microorganismos, blancos potenciales de *Trichoderma*, pueden haber atraído a los ancestros de este género para asentarse en la rizosfera, facilitando la evolución de las interacciones con la planta (Druzhinina et al., 2011).

Los mecanismos más fácilmente evidenciados en las interacciones antagónicas entre *Trichoderma* y los fitopatógenos del suelo son: el micoparasitismo, la antibiosis y la competencia. En el micoparasitismo, el antagonista detecta el patógeno mediante estímulos químicos en el suelo y crece hacia él, produciendo enzimas hidrolíticas que ayudan en la degradación de la pared celular del patógeno. El micelio de *Trichoderma* se enrolla alrededor de la hifa o estructura de resistencia de la planta hospedante y luego inicia el proceso de micoparasitismo. El agente de biocontrol penetra en la pared celular del hospedante y utiliza el contenido celular como fuente de alimento a través de enzimas hidrolíticas como quitinasas, glucanasas y proteasas que desempeñan funciones clave en el control biológico (Samuels; Hebbbar, 2015).

El análisis comparativo del genoma de *T. atroviride*, *T. virens* y *T. reesei* mostró que la capacidad como micoparásito es innata al género (Kubicek et al., 2011), pero durante la interacción con *R. solani* las estrategias utilizadas por estas especies de *Trichoderma* son diferentes (Atanasova et al., 2013). Además, los niveles de expresión de genes ligados al biocontrol pueden variar según la estructura del hongo que se parasite, en este caso, micelio, esclerocio o apotecio (Troian et al., 2014), demostrando que existen posibilidades de ajuste a la selección de antagonistas para micoparasitismo, según el objetivo deseado.

La antibiosis se define como la interacción entre organismos en la que los individuos de una población secretan metabolitos capaces de inhibir o impedir el desarrollo de los individuos de una población de otra especie (Bedendo et al., 2011). *Trichoderma* produce metabolitos secundarios, como antibióticos y enzimas hidrolíticas, volátiles o no volátiles, capaces de

inhibir o destruir propágulos de diferentes patógenos (Harman, 2000). Entre los diversos metabolitos producidos, la 6-pentil-pirona (6PP) es un compuesto orgánico volátil común de *Trichoderma*, responsable del aroma a coco y la pigmentación amarilla en algunas especies (Hermosa et al., 2013), que inhibe el crecimiento de patógenos como *Fusarium oxysporum* (Rubio et al., 2009). La antibiosis juega un papel importante en el control biológico de las enfermedades de las raíces, pero sus efectos son difíciles de separar del micoparasitismo en condiciones de campo. Sin embargo, Ethur et al. (2001), en pruebas *in vitro*, confrontaron directamente a *Trichoderma* spp. y *S. sclerotiorum* y observaron que los agentes de biocontrol mostraron hasta un 93% de inhibición del crecimiento del patógeno, aunque el agente de biocontrol también puede utilizar otras formas de antagonismo.

Además de los mecanismos clásicos, el micoparasitismo y la antibiosis, las especies de *Trichoderma* también pueden inhibir fitopatógenos por otros medios, como la competencia por nutrientes y espacio (Chet, 1987). La competencia en la rizosfera (o rizocompetencia) de *Trichoderma* evalúa la capacidad del microorganismo para establecerse en la rizosfera de las plantas y competir con otros microorganismos (Howell, 2003). Este autor destaca que si bien la rizocompetencia no es el principal mecanismo que favorece el control biológico, esta habilidad puede considerarse un factor complementario.

En el caso del frijol común, la colonización del sistema radicular es una premisa básica para la protección de las plantas y la prevención del ataque de nematodos y hongos causantes de pudriciones, donde es posible encontrar aislados de *Trichoderma* que combinan esta y otras características deseables, como el micoparasitismo y la antibiosis (Figura 5).

Foto: Murillo Lobo Junior.



**Figura 5.** Parcela de frijol tratado con *Trichoderma harzianum* con efectos de micoparasitismo, antibiosis, promoción del crecimiento vegetal y rizocompetencia (izquierda) y control (derecha), de un ensayo en un área comercial en Cristalina, GO.

La relación simbiótica entre las especies de *Trichoderma* y la planta puede dar como resultado la inducción de resistencia sistémica (SRI) y la promoción del crecimiento. La colonización de las raíces activa los mecanismos de defensa en las plantas. La inducción de la resistencia a enfermedades por parte de *Trichoderma* se produce mediante el desencadenamiento de una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en la planta, que conducen a la activación de sus mecanismos de defensa frente a diversos fitopatógenos. En los últimos años, numerosos estudios sobre la inducción de resistencia en plantas por parte de *Trichoderma* han demostrado que es un mecanismo común e importante en el control biológico (Gomes et al., 2015).

Los metabolitos secundarios secretados, en bajas concentraciones, actúan como patrones moleculares asociados a microorganismos, los cuales son reconocidos por la planta, iniciando una cascada de señalización mediada por el ácido jasmónico y el etileno para posteriormente activar los mecanismos de defensa de la planta (Harman et al., 2004; Hermosa et al., 2012). Entre los ejemplos de los mecanismos de defensa se incluyen la deposición de calosa y celulosa en las paredes celulares y la liberación de compuestos fenólicos. Algunas respuestas de defensa se activan solo después de que el patógeno ataca y pueden resultar en una respuesta más rápida y fuerte (Shoresh et al., 2010).

### ***Trichoderma* como promotor del crecimiento de la planta**

La promoción del crecimiento en la planta por *Trichoderma* spp. ha sido descrita en diferentes cultivos, incluido el frijol común (Hoyos-Carvajal et al., 2009; Pedro et al., 2012), y puede observarse fácilmente como resultado del tratamiento de semillas u otras formas de aplicación (Figura 6). La promoción del crecimiento vegetal por especies de *Trichoderma* se da a través de la producción de giberelinas y auxinas como AIA (Hermosa et al., 2012), que favorecen el desarrollo de raíces laterales. La colonización de raíces resultante aumenta el crecimiento y desarrollo del área de raíces y hojas, aumenta la productividad de los cultivos y, como consecuencia, permite que las plantas resistan mejor el estrés abiótico, como las sequías, además de ayudar a la absorción y utilización de nutrientes (Harman et al., 2004).

Foto: Murillo-Lobo Junior.



**Figura 6.** Promoción del crecimiento de plántulas de frijol común después del tratamiento de semillas con un aislado de *Trichoderma* spp. y el tratamiento control.

En áreas comerciales con suelos infestados por patógenos, la promoción del crecimiento en plantas de frijol común por parte de *Trichoderma* también puede ser consecuencia del biocontrol por mecanismos de antibiosis, micoparasitismo y competencia. En ausencia de fitopatógenos, la capacidad del agente de biocontrol para promover el crecimiento y la productividad de las plantas también puede ocurrir a través de la solubilización de nutrientes minerales como el fósforo, debido a la acción de la enzima fosfatasa ácida (Harman et al., 2004).

La cepa T-22 de *T. harzianum*, por ejemplo, puede solubilizar varios nutrientes como roca fosfórica, hierro, cobre, manganeso y zinc, que pueden ser limitantes para las plantas en ciertos suelos (Altomare et al., 1999). Esta cepa produce el compuesto 6PP, que en bajas concentraciones regula el crecimiento de las plantas, contribuyendo a la producción de sistemas radiculares más extensos y desarrollados, que aumentan significativamente la altura de las plantas, el área foliar y la germinación de la semilla (Hermosa et al., 2013; Nieto-Jacobo et al., 2017).

Como se explicó anteriormente, algunas especies de *Trichoderma* pueden sintetizar la hormona vegetal AIA, lo que influye directamente en el crecimiento de las plantas. Las hormonas vegetales son reguladores naturales del crecimiento de las plantas, que influyen en los procesos fisiológicos a bajas concentraciones y pueden ser producidas por microorganismos distintos a *Trichoderma* spp., como bacterias y otros hongos.

El AIA está involucrado en procesos fisiológicos que incluyen la elongación y división celular, diferenciación de tejidos, regulación de las respuestas de crecimiento hacia la luz



(fototropismo), respuestas a las fuerzas de la gravedad (gravitropismo) y respuestas defensivas (Santner et al., 2009). Los exudados de las raíces del frijol común y otras especies son fuentes de L-triptófano, que es un precursor de la síntesis de IAA. Estas características hacen que la promoción del crecimiento vegetal sea una de las características más prometedoras para explotar la diversidad de especies de *Trichoderma*, y que posiblemente pueda competir en el interés científico y explotación comercial con su aplicación en biocontrol (Harman, 2011). Sin embargo, debido a que se conocen aislamientos que contienen ambas características deseables, se espera que el control biológico y la promoción del crecimiento de las plantas trabajen juntos proporcionando los beneficios del uso de este microorganismo beneficioso.

### **El control biológico como práctica eficiente y respetuosa con el medio ambiente**

La sociedad ha estado presionando a los sectores de producción agrícola para aumentar la oferta de alimentos más saludables, impulsada por la preocupación por los efectos potencialmente nocivos que algunos insumos químicos tienen sobre la salud humana y el medio ambiente (Bettiol; Morandi, 2009). De esta forma se ha estimulado el interés científico por el uso de microorganismos en una agricultura sostenible y productiva con bajo impacto ambiental. Brasil y otros países cuya economía se basa en la agricultura perciben esta necesidad y apoyan la implementación de sistemas de producción sostenibles, donde el control biológico es una herramienta indispensable.

Según Berg (2009), los inoculantes microbianos tienen varias ventajas sobre los productos químicos y son más seguros, ya que presentan un impacto ambiental reducido y un riesgo potencialmente menor para la salud humana. Los bioproductos se descomponen más rápido que los insumos químicos convencionales y pueden usarse tanto en sistemas convencionales o en un sistema de manejo integrado de enfermedades. La adopción de agentes de biocontrol en ciclos de cultivo sucesivos brinda protección a largo plazo, con beneficios que pueden permanecer durante el ciclo anual del cultivo (Harman, 2000).

En los últimos años, las investigaciones han demostrado que los microorganismos como *Trichoderma* spp. puede influir en las plantas de diferentes maneras, proporcionando soluciones prometedoras para la agricultura sostenible (Berg, 2009). La prospección de aislados de *Trichoderma* con alto potencial como agentes de biocontrol y promotores del crecimiento en plantas se ha incrementado en los últimos años. El desarrollo de bioproductos en Brasil sigue la investigación internacional, cuyo desarrollo ya puso a la venta más de 50 productos agrícolas a base de *Trichoderma* hasta 2015, en países como Nueva Zelanda (12 productos), EE. UU. (9 productos) y Vietnam (7 productos) (Samuels; Hebbbar, 2015). Siendo Brasil el mayor consumidor mundial de bioproductos a base de *Trichoderma* (Lorito et al.,

2010) y, de acuerdo con el potencial de expansión de este mercado, el país debería mantener su posición en este ranking.

El mercado mundial de plaguicidas biológicos tiene una tasa de crecimiento cinco veces superior a la de la industria de plaguicidas químicos. Las proyecciones realizadas por la Asociación Brasileña de Empresas de Control Biológico (ABCBio) muestran que las ventas de bioproductos pueden crecer entre 15 y 20% en los próximos años (ABCBio, 2016). Si bien los biofungicidas y nematocidas microbiológicos para promover el crecimiento de las plantas ya son una herramienta disponible, en el futuro se esperan nuevos agentes protectores contra los estreses abióticos generados por la salinidad, el déficit hídrico, las inundaciones y los metales pesados.

Se concluye que las plantaciones de frijol común son altamente beneficiadas por el biocontrol de enfermedades a través del uso de *Trichoderma*, como método para reducir el número de esclerocios de *S. sclerotiorum* en el suelo y proteger las raíces contra patógenos como especies *Fusarium* y *R. solani*. La selección de nuevos antagonistas puede mejorar los niveles de control ya obtenidos y ser asistida por marcadores bioquímicos o moleculares, asociados, por ejemplo, a la producción de enzimas que degradan la pared celular de los patógenos (Geraldine et al., 2013; Troian et al., 2014). Actualmente existe el potencial de micoparasitismo y muerte de aproximadamente el 70% de los esclerocios de *S. sclerotiorum* en el suelo en un ciclo de cultivo por medio de los antagonistas, y el biocontrol, asociado a otras formas de manejo, lo que permite obtener niveles aún mayores de control de la pudrición blanca. Considerando la importancia de otros patosistemas, los incentivos para el avance del conocimiento en esta área son muchos y las posibilidades de obtener nuevos aislamientos con potencial de biocontrol están lejos de agotarse.

## Referencias

- ABCBio. Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico. **Mercado de defensivo agrícola biológico tem boas perspectivas** no País. 2016. Disponible en: <<http://www.abcbio.org.br/conteudo/publicacoes/mercado-de-defensivo-agricola-biologico-tem-boas-perspectivas-no-pais/>>. Acceso el: 23 mar. 2017.
- ALTMARE, C.; NORVELL, W. A.; BORJKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295–22. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, 1999.
- BAE, Y. S.; KNUDSEN, G. R. Effect of sclerotial distribution pattern of *Sclerotinia sclerotiorum* on biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 35, n. 1, p. 21-24, 2007.
- BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: W. H. Freeman, 1974. 433 p.
- BEDENDO, I. P.; MASSOLA JUNIOR, N. S.; AMORIM, L. **Controle cultural, físico e biológico de doenças de plantas**. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). Manual de Fitopatologia. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. p. 367-388.
- BERG, G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, n. 1, p. 11-18, 2009.

- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas.** In: MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. (Ed). Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.
- BISSETT, J.; GAMS, W.; JAKLITSCH, W.; SAMUELS, G. J. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. **International Mycological Association Fungus**, United States, v. 6, n. 2, p. 263-295, 2015.
- BOLAND, G. J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 16, n. 2, p. 93-108, 1994.
- BRASIL. **Portaria nº 3**, de 05 de janeiro de 2004. Diário Oficial da União no 3, de 06 de janeiro de 2005, Sección 1, p. 35-41.
- CHET, I. **Trichoderma - Application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne pathogenic fungi.** In: CHET, I. (Ed). Innovative Approaches to Plant Disease Control. Nova York: Wiley and Sons, 1987. p. 137-160.
- COSTA, J. L. S. Soil inoculum density limiting the effectiveness of chemicals on the control of white mold on dry beans. In: An integrated approach to combating resistance, 1997. Harpenden-Herts. **Proceedings...**, 1997, p. 78-80.
- CRUZ, I. **Controle biológico em manejo integrado de pragas.** In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORREA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo: MANOLE, 2002. cap.32, p. 543.
- DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEHLINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, p. 749-759, 2011.
- ETHUR, L. Z.; CEMBRANEL, C. Z.; SILVA, A. C. F. D. Seleção de *Trichoderma* spp. visando ao controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, in vitro. **Ciência Rural**, v. 31, p. 885-887, 2001.
- GERALDINE, A. M.; LOPES, F. A. C.; CARVALHO, D. D. C.; BARBOSA, E. T.; RODRIGUES, A. R.; BRANDÃO, R. S.; ULHOA, C. J.; LOBO JUNIOR, M. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. **Biological Control**, v. 67, p. 308-316, 2013.
- GOMES, E. V.; COSTA, M. N.; AZEVEDO, R. R.; PAULA, R. G.; SILVA, F. L.; NORONHA, E. F.; ULHOA, C. J.; MONTEIRO, V. N.; CARDOZA, R. E. L.; GUTIERREZ, S.; SILVA, R. N. The Cerato-Platanin protein Epl-1 from *Trichoderma harzianum* is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self-cell wall protection. **Scientific Reports**, v. 5, p. 17998, 2015.
- HARMAN, G. E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - Opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HARMAN, G. E. *Trichoderma* - not just for biocontrol anymore. **Phytoparasitica**, v. 39, n. 2, p. 103-108, 2011.
- HERMOSA, R.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International Microbiology**, v. 16, p. 69-80, 2013.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, v. 51, n. 3, p. 409-416, 2009.
- HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, p. 4-10, 2003.
- KUBICEK, C. P.; HERRERA-ESTRELLA, A.; SEIDL-SEIBOTH, V. et al. Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. **Genome Biology**, v. 12, n. 4, p. R40, 2011.
- LOBO JUNIOR, M. **Controle de Podridões Radiculares no Feijoeiro Comum com o Fungicida Microbiano Trichoderma.** In: Tarcísio Cobucci; Flávio Jesus Wruck. (Org.). Resultados obtidos na Área Pólo de Feijão no período de 2002 a 2004. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2005, p. 13-17.
- LOBO JUNIOR, M.; LOUZADA, G. A. S. Densidade de inóculo de *Fusarium solani* e *Rhizoglyphia solani* em áreas cultivadas com o feijoeiro, na região Centro-Oeste. In: Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão, 2005, Goiânia. **Anais...** VIII Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão - Série Documentos n 182, 2005. p. 170-173.



- LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational Research on *Trichoderma*: From 'Omics to the Field. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 395-417, 2010.
- NIETO-JACOBO, M. F.; STEYAERT, J. M.; SALAZAR-BADILLO, F. B.; NGUYEN, D. V.; ROSTÁS, M.; BRAITHWAITE, M.; DE SOUZA, J. T.; JIMENEZ-BREMONT, J. F.; OHKURA, M.; STEWART, A.; MENDOZA-MENDOZA, A. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 102, 2017.
- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Glodadium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, v. 23, n. 1, p. 23-54, 1985.
- PEDRO, E. A. S.; HARAKAVA, R.; LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. D. Promoção do crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1589-1595, 2012.
- RICARDO, T. R.; WANDER, A. E.; LOBO JUNIOR, M. Custos associados ao mofo branco (*Sclerotinia esclerotiorum*) em feijoeiro comum de 3ª safra em Goiás. In: X Congresso Nacional de Feijão, 2008, Campinas. **Documentos**. Campinas, SP: Instituto Agronômico de Campinas, 2008. v. 85. p. 787-790.
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; REINO, J. L.; COLLADO, I. G.; MONTE, E. Thctf1 transcription factor of *Trichoderma harzianum* is involved in 6-pentyl-2H-pyran-2-one production and antifungal activity. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, n. 1, p. 17-27, 2009.
- SANTNER, A.; CALDERON-VILLALOBOS, L. I. A.; ESTELLE, M. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. **Nature Chemical Biology**, v. 5, n. 5, p. 301-307, 2009.
- SAMUELS, G. J. **Trichoderma: A guide to identification and biology**. Beltsville: Agricultural States Department of Agriculture, 2004.
- SAMUELS, G. J.; HEBBAR, P. K. **Developing Trichoderma-Based Products for Application in Agriculture**. In: SAMUELS, G. J.; HEBBAR, P. K. (Ed.). **TRICHODERMA: identification and agricultural applications**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 2015. p. 7-34.
- SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 21-43, 2010.
- TROIAN, R. F.; STEINDORFF, A. S.; RAMADA, M. A. S.; ARRUDA, W.; ULHOA, C. J. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* against *Sclerotinia sclerotiorum*: evaluation of antagonism and expression of cell wall-degrading enzymes genes. **Biotechnology Letters**, v. 2, p. 1-6, 2014.
- WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, v. 22, p. 837-845, 1932.
- ZACHOW, C.; GROSCH, R.; BERG, G. Impact of biotic and a-biotic parameters on structure and function of microbial communities living on sclerotia of the soil-borne pathogenic fungus *Rhizoglyphus solani*. **Applied Soil Ecology**, v. 48, n. 2, p. 193-200, 2011.
- ZENG, W.; KIRK, W.; HAO, J. Field management of *Sclerotinia* stem rot of soybean using biological control agents. **Biological Control**, v. 60, n. 2, p. 141-147, 2012.

## Uso de *Trichoderma* en cereales

*Wilson Story Venancio*

*Robinson Martins Venancio*

*Flávia de Oliveira Marzarotto*

*Vanessa Nathalie Modesto Boratto*

*Eduardo Gilberto Dallago*

*Ibraian Valério Boratto*

El control de las principales enfermedades causadas por hongos necrotróficos en las etapas iniciales del desarrollo de los cereales siempre ha sido una tarea difícil, en gran parte dejada en manos de los productos químicos disponibles para el tratamiento de semillas. Sin embargo, su eficacia se ha reducido, principalmente por el uso continuado de los mismos principios activos, sin renovación de moléculas y, con sistemas de distribución de productos muy variables, abarcando tecnologías más avanzadas como TSI (tratamiento industrial de semillas) y otras más sencillas, desarrollado en las propiedades, tales como tambores giratorios. Lo que se puede ver, observando estos hechos, es que esta tecnología necesita urgentemente ayuda, para seguir siendo efectiva y promover el beneficio esperado.

El avance en el uso del control biológico, que culmina con el desarrollo y disponibilidad de nuevas cepas, ha demostrado ser una herramienta importante en el control de estos hongos necrotróficos. Junto a esto, la fumigación en el surco de siembra, tecnología ya ampliamente difundida y utilizada por los agricultores, ha ayudado a mejorar el desempeño de estos microorganismos, colocándolos en una situación privilegiada para una futura relación con las raicillas, que al iniciar su desarrollo entrarán en contacto a estos biocontroladores y así se inician las actividades deseadas. Este sistema también permite un menor riesgo de pérdida de agentes biológicos, evitando el contacto directo con los productos químicos utilizados en TS (insecticidas y fungicidas, principalmente), reduciendo también los riesgos por exceso de calor, rayos UV y otras pérdidas que se podrían producir si fueran utilizados en el área total, procurando la cobertura de cultivo.

Distribuido por todo el mundo, el género *Trichoderma* se presenta prácticamente en todo tipo de suelos y ambientes naturales, especialmente en aquellos con altos contenidos de materia orgánica (Pradebon, 2016). Este género y otros como *Gliocladium* y bacterias del género *Bacillus* y *Pseudomonas* se destacan como los agentes de biocontrol más investigados y utilizados en la agricultura (Pereira et al., 2007). Estos agentes también se encuentran en la rizosfera de las plantas. Esto justifica la biotecnología atribuida a este grupo (Esposito; Silva, 1998). Los hongos del género *Trichoderma* son biorreguladores naturales y antagonistas de diversos agentes fitopatógenos. Actúan como agentes de control biológico, reduciendo o incluso eliminando la necesidad de utilizar fungicidas químicos (Melo, 1991, Harman, 2000). Estos hongos son considerados excelentes micoparásitos, atacando hifas y estructuras de reproducción y supervivencia de los patógenos de plantas, reduciendo así la capacidad e inóculo del patógeno para futuras infecciones (Bettli; Ghini, 1995). *Trichoderma* spp. son micoparásitos necrotróficos, los cuales son efectivos en el control de numerosos hongos fitopatógenos, atacando también a aquellos con estructuras de resistencia consideradas difíciles de ser atacadas por microorganismos, tales como esclerocios, esporas y microesclerocios (Melo, 1996). La inducción de resistencia es también un mecanismo de control biológico. Este proceso ocurre cuando las plantas son expuestas a un agente inductor y sus mecanismos de defensa son activados, no solo en el sitio de inducción, sino de manera más o menos generalizada (Romeiro, 1999).

Investigaciones con diferentes cultivos demuestran esta capacidad y adicionan información sobre los mecanismos de acción de estos agentes de biocontrol, destacando el micoparasitismo (Harman, 2000, Melo, 1998, Stadnik; Bettli, 2000), competencia por espacio y nutrientes (Benítez et al., 2004, Harman, 2000), antibiosis (Stadnik; Bettli, 2000), inducción de resistencia (Hwang; Benson, 2002, Romeiro, 2007, Sneh; Ichielevick-Auster, 1998) y promoción del crecimiento (Carvalho Filho et al., 2008, Harman et al., 2004b, Lucon, 2009), sin embargo, los mecanismos de acción para promover el crecimiento en ausencia de fitopatógenos aún son poco conocidos. La producción masiva de *Trichoderma* se ha convertido en un foco de investigación y desarrollo industrial en la búsqueda de alternativas a los tratamientos químicos para el control de enfermedades de plantas causadas por microorganismos presentes en suelo y en las semillas (Machado et al., 2012). Estas características hacen de este hongo uno de los más investigados en condiciones de laboratorio, cultivos protegidos y campo (Altomare et al., 1999; Harman et al. 2004a; Resende et al., 2004; Delgado et al., 2007; Carvalho Filho et al., 2008; Louzada et al., 2009; Hoyos-Carvajal et al., 2009).

Los mecanismos de *Trichoderma* para promover el crecimiento de las plantas, en ausencia de fitopatógenos, aún son poco conocidos en comparación con los mecanismos de acción referidos al control biológico (Pomella; Ribeiro, 2009). De acuerdo con las investigaciones *in*

*vitro* realizadas por Altomare et al. (1999), la promoción del crecimiento en plantas promovida por *Trichoderma harzianum* Rifai aislado T-22, está relacionada con su capacidad para solubilizar nutrientes importantes para la planta. Según Baugh; Escobar (2007), la acción de este hongo como estimulador del crecimiento es compleja y se realiza por interacciones con factores bioquímicos y producción de varias enzimas y compuestos benéficos. Entre las características del género *Trichoderma* se encuentra la capacidad de asociarse con las raíces de plantas, a través de mecanismos similares a los hongos micorrízicos (Benítez et al., 2004), característica que puede ayudar a esclarecer la promoción del crecimiento de la planta. Según Harman (2000), muchas especies estudiadas de *Trichoderma* son capaces de producir metabolitos tóxicos, como antibióticos y enzimas líticas capaces de inhibir y destruir propágulos de hongos fitopatógenos. *Trichoderma* produce aproximadamente 40 sustancias que tienen actividad antibiótica.

En los cultivos tropicales, las enfermedades de las raíces han recibido poca atención en comparación con las enfermedades foliares, especialmente cuando los síntomas se limitan a las raíces (Michereff et al., 2005). El control de las enfermedades de las raíces es muy difícil, ya que los patógenos han coevolucionado con las plantas durante millones de años y están altamente adaptados al suelo en asociación con la planta hospedante (Bruehl, 1987). Las enfermedades de las raíces son generalmente el resultado de un suelo desequilibrado. La mayoría de las veces, el origen de este desequilibrio está en los sistemas agrícolas adoptados, que transforman los campos de cultivo en lugares de alta simplificación ecológica, sujetos a perturbaciones por parte de algunos agentes, entre los que se encuentran los fitopatógenos (Michereff et al., 2005). Los componentes físicos, químicos y biológicos del medio ambiente del suelo tienen un impacto directo en el crecimiento de las plantas y el desarrollo de enfermedades de las raíces. Estos tres componentes están interconectados, por lo que intentar cambiar el delicado equilibrio entre ellos podría significar la diferencia entre la producción exitosa de cultivos o con pérdidas debido a enfermedades de las raíces (Wheeler; Rush, 2001).

La enfermedad de plantas, en el contexto del control biológico, incluye la interacción de la planta, el patógeno, el medio ambiente y una variedad de agentes no patógenos que se encuentran en el sitio de la infección y que tienen el potencial de limitar o aumentar la actividad del patógeno o la resistencia de la planta hospedante. El control biológico de las enfermedades de la raíz, aunque complejo, ha tenido éxito porque la rizosfera es un ambiente más fácilmente manipulable que la filosfera (Andrews, 1992). La introducción de microorganismos adaptados al microhábitat del patógeno es uno de los aspectos más relevantes para el éxito de un programa de control biológico de enfermedades de plantas (Bettiol, 1991). Las mezclas de antagonistas compatibles pueden aumentar la diversidad genética de los sistemas de biocontrol, dando

como resultado tratamientos más persistentes en la rizosfera, que comprenden diferentes mecanismos de control, efectivos bajo una amplia gama de condiciones ambientales (Mariano et al., 2005). De esta manera, las interacciones específicas entre aislados de biocontroladores tienden a incrementar la eficiencia del control biológico (De Boer et al., 1999; Pierson; Weller, 1994, Raupach; Kloepper, 1998).

Pufal (2017), mediante el tratamiento de semillas con productos biológicos (*Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* y *Trichoderma* spp.) y químicos, evaluó el control de la roya y la mancha amarilla en variables de rendimiento en trigo. El autor encontró que el uso de *Trichoderma* spp. en el tratamiento de semillas afectó positivamente el control de la roya de la hoja, sin embargo, no fue eficiente para el control de la mancha amarilla del trigo. Dentro de la misma línea de investigación, Pradebon (2016) evaluó la eficiencia de productos de control químico y biológico con el uso de *Trichoderma* spp., aplicado en tratamientos de semillas y en aplicación aérea, observando que la aplicación de *Trichoderma* spp. en el tratamiento de semillas junto con el control químico de la parte aérea proporcionó ganancias de rendimiento. En este sentido, el tratamiento donde se aplicó *Trichoderma* spp. a la semilla más el tratamiento químico en la parte aérea fue el que presentó mayor rendimiento (4.528 kg/ha), pero este tratamiento no difirió estadísticamente de aquellos en los que se utilizó el tratamiento químico en semilla y parte aérea y con el tratamiento químico más biológico tanto en la semilla como en la aérea. Para el autor, la tendencia de mejor respuesta del tratamiento con biológico en la semilla, junto a la aplicación de fungicida químico en la parte aérea, puede atribuirse a la importante acción de los metabolitos secundarios producidos por el hongo en la promoción del crecimiento de las plantas y en la inducción de resistencia.

La sanidad de la avena negra (*Avena strigosa*) cv. BRS 139 fue evaluada por Barbieri et al. (2013) sometidas a tratamientos químicos, biológicos y una mezcla de ambos fueron identificados los hongos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus* y *Trichoderma*. Los resultados encontrados por estos autores mostraron que el producto químico aislado o asociado a biológico fue más eficiente en el control de los hongos presentes, destacando que, de los géneros encontrados, el uso de producto químico no inhibió la colonización de *Trichoderma*, demostrando la capacidad de este bioprotector para colonizar incluso en presencia de fungicidas. Así, los autores demuestran de manera concluyente que los tratamientos más eficientes para el control de los hongos presentes consistieron en el uso aislado del fungicida (flutriafol) y de su uso asociado al producto biológico (flutriafol + *Trichoderma* spp.). Resultados similares fueron observados por Ethur et al. (2006), quienes verificaron que el bioprotector *Trichoderma* solo o asociado al control químico (thiram) favoreció la sanidad de semillas de avena negra, centeno y rábano forrajero, y para este último promovió el aumento de la altura de las plántulas. Según Henning et al. (2009), los fungicidas

biológicos y algunos productos formulados con aislados de *Trichoderma* spp., tienen amplitud de acción en el antagonismo a hongos y bacterias. Estos microorganismos no son tóxicos para humanos y animales. Además de los efectos de *Trichoderma* spp. en el control de patógenos de plantas, ciertas cepas pueden estimular el crecimiento y la floración de las plantas hortícolas.

Milanesi (2012) tuvo como objetivo cuantificar y correlacionar las poblaciones *Fusarium* spp. y *Trichoderma* spp. en suelos compactados cultivados con avena negra y soja, para probar la eficiencia *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. versus *Fusarium* spp., además de cuantificar la producción de deoxinivalenol y zearalenona, recolectaron muestras en el municipio de Victor Graeff, RS, en mayo de 2009 y mayo y noviembre de 2010. El autor identificó las especies *T. koningiopsis*, *T. tomentosum* y *T. asperellum* y encontró que el hecho de que tanto el patógeno como la mayoría de los antagonistas fueran obtenidos de los mismos puntos de recolección en campo puede haber contribuido al buen desempeño de los antagonistas, ya que están más adaptados a las condiciones de estrés del ambiente (compactación). En conclusión, todos los aislados de *Trichoderma* mostraron potencial para el control de *Fusarium* spp. y en el cultivo de avena negra se destacaron como promotores del crecimiento de la raíz, aumentando el peso fresco de las plántulas.

El uso de *Trichoderma* spp., solo o en combinación con bacterias promotoras del crecimiento, fue evaluado por Cadore et al. (2016) en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) con el objetivo de verificar la influencia en la germinación y desarrollo inicial de plantas del cv. IRGA 424 RI. Los autores observaron un aumento en el porcentaje de germinación con la dosis de 0,1 ml de *Trichoderma* spp., asociado o no a una dosis de 0,05 ml de *Azospirillum*, concluyendo que dosis aisladas o combinadas de estos microorganismos aumentan el porcentaje de germinación y no modifican el materia fresca y seca y la longitud de la parte aérea, en evaluaciones realizadas a los 14 días después de la siembra. Estos datos fueron confirmados con base en los resultados de Machado et al. (2011) por el uso de formulaciones a base de microorganismos, que pueden estimular la germinación de semillas y el desarrollo del cultivo, y estos autores además reportan que las cepas de *Trichoderma* pueden colonizar las raíces de las plantas, estimulando el desarrollo, además de proteger las raíces contra posibles infecciones. Estos estudios permitieron a los autores concluir que, solos o combinados con *Trichoderma harzianum*, el uso de cepas de rizobios promueve el aumento del nitrógeno mineral absorbido y de la masa vegetal de la parte aérea de plantas de avena negra.

Scudeler; Venegas (2012) estudiaron el uso de *T. harzianum* asociado o no con fungicidas en el tratamiento de semillas de maíz, tanto en campo como en invernadero y observaron una diferencia significativa para el índice de velocidad de emergencia (IVE) cuando se aplicó el biocontrolador solo a una dosis de 10 g/ha del producto comercial, demostrando ser más eficiente que el uso de productos químicos o productos químicos y biológicos combinados.

En esa misma línea de investigación, Luz (2001) demostró, a través de experimentos de campo, en Passo Fundo, RS, que *T. harzianum* aumentó significativamente la emergencia y el rendimiento de granos en maíz, destacando que el tratamiento biológico puede proporcionar una mejor emergencia del cultivo de maíz. Aunque esta característica ha sido estudiada y aceptada como prometedora, no todos los resultados están de acuerdo, ya que Resende et al. (2004) encontraron una reducción en el índice de velocidad de emergencia cuando inocularon *T. harzianum* en semilla de maíz. La influencia del uso de *T. harzianum* y *Azospirillum brasilense* en el desarrollo del cultivo de maíz también fue evaluada por Wagatsuma et al (2012), bajo condiciones de invernadero, en Umuarama, PR. Los tratamientos de los organismos aislados o combinados se evaluaron en dos híbridos, evaluándose altura de planta, diámetro de tallo y masa seca de la parte aérea. Los autores, en este caso, concluyeron que la inoculación de semillas de maíz con *A. brasilense* o *T. harzianum*, proporcionó mayor altura de planta a los 63 días después de la inoculación. Se observaron diferencias significativas en el tratamiento de plantas de maíz con *A. brasilense* y/o *T. harzianum*, siendo que el tratamiento sin producto acumuló menos masa seca en la parte aérea en comparación con las plantas obtenidas a partir de semillas inoculadas (Harman et al., 1989) y aun así, los investigadores verificaron un aumento significativo en el crecimiento de plantas de maíz a partir de semillas inoculadas con *Trichoderma*. Harman (2000) inoculó *T. harzianum* en semillas de maíz dulce y dio como resultado una mayor abundancia de raíces en comparación con el tratamiento sin inoculación, pero el rendimiento del cultivo no fue afectado.

Estudios realizados de 2012 a 2016 en la región de Campos Gerais, en el Estado de Paraná, en el municipio de Palmeira, junto con productores y también en la Estación Experimental Agropecuaria de Campos Gerais - EEACG, buscaron evaluar los efectos de bioprotección de *Trichoderma* spp. en cultivos de avena blanca, avena negra y trigo, monitoreando sus efectos en la severidad de enfermedades causadas por hongos necrotróficos y, también, su efecto en cultivos de soja, evaluados mediante el seguimiento de la incidencia de la pudrición blanca (*S. sclerotiorum*). Los tratamientos se realizaron inicialmente en cobertura total de suelo y posteriormente tanto en tratamiento de semillas como en cobertura de suelo. Lo que se observó, en este período, es que los cereales de invierno, en general, presentaron mayor uniformidad de desarrollo y menor incidencia de pudriciones, cuando comparados a las áreas sin aplicación de *Trichoderma*. Además, en cultivos posteriores, cuando se cultivó soja en estas zonas, se observó una reducción en la incidencia de la pudrición blanca. Actualmente, los productores más tecnificados, que cuentan con altos índices de productividad tanto en cultivos de invierno como de verano, vienen colocando como inversión básica el uso de productos biológicos en la implantación de sus cultivos, ya sea mediante la aplicación en área total, en el tratamiento de en semillas o tratamiento en el surco de siembra, técnica que ha mostrado

los resultados más prometedores. El manejo integrado, establecido en cultivos de invierno, ha demostrado ser una importante herramienta para reducir enfermedades importantes como la pudrición blanca en cultivos de verano como la soja y habas, pero también reducir la incidencia de pudriciones o muertes prematuras en estos mismos cultivos causados por géneros como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, entre otros.

## Referencias

- ALTMORE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKMAN, 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**, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.
- ANDREWS, J. H. Biological control in the phyllosphere. **Annual Review of Phytopathology**, v. 30, p. 603-635, 1992.
- BARBIERI, M.; ÁVILA, V. S.; MACIEL, C. G.; NOAL, G.; MUNIZ, M. F. B.; DÖRR, A. C. Qualidade sanitária de sementes de aveia preta cv. BR5 139 (*Avena strigosa* SCHREB) submetidas ao envelhecimento acelerado. **REMOA**, v. 13, n. 13, p. 2828-2836, 2013.
- BAUGH, C. L.; ESCOBAR, B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bio-augmentation. **Rice Farm Magazine**, p. 1-4, 2007.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CONDÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BETTIOI, W. (Org.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguarúna: Embrapa Meio Ambiente. 1991. p. 338.
- BETTIOI, W.; GHINI, R. Controle biológico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1995. p. 717-727.
- BRUEHL, G. W. **Soilborne Plant Pathogens**. New York: MacMillan, 1987.
- CADORE, L. S.; SILVA, N. G.; VEY, R. T.; SILVA, A. C. F. Inoculação de sementes com *Trichoderma harzianum* e *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial de arroz. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 24, p. 1725-1731, 2016.
- CARVALHO FILHO, M. R.; MELLO, S. C. M.; SANTOS, R. P.; MENÉZES, J. E. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* na produção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 226).
- DE BOER, M.; VAN DER LUIS, I.; VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M. Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of fusarium wilt of radish. **European Journal of Plant Pathology**, v. 105, p. 201-210, 1999.
- DELGADO, G. V.; MARTINS, I.; MENÉZES, J. E.; MACEDO, M. A.; MELLO, S. C. M. **Inibição do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. in vitro**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 12 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 214).
- ESPOSITO, E.; SILVA, M. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. **Critic Rev Microbiol.**, v. 24, p. 89- 98, 1998.
- ETHUR, L. Z.; ROCHA, E. K.; MILANESI, P.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, E. Sanidade de sementes e emergência de plântulas de nabo forrageiro, aveia preta e centeio submetidas a tratamentos com bioprotetor e fungicida. **Ciência e Natura**, v. 28, n. 2, p. 17-27, 2006.
- HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, n. 4, p. 376-393, 2000.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 43-56, 2004a.
- HARMAN, G. E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. Interactions between *Trichoderma harzianum* Strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Plant Physiology**, v. 94, n. 2, p. 146-153, 2004b.
- HARMAN, G. E.; TAYLOR, A. G.; STASZ, T. E. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix promoting to improve biological seed treatments. **Plant Disease**, v. 73, p. 631-637, 1989.



- HENNING, F. A.; MERTZ, L. M.; ZIMMER, D.; TEPLIZKY, M. D. F. Qualidade fisiológica, sanitária e análise de isoenzimas de sementes de aveia-preta tratadas com diferentes fungicidas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 3, p. 063-069, 2009.
- HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, v. 51, p. 409-416, 2009.
- HWANG, J.; BENSON, D. M. Biocontrol of *Rhizoctonia* stem and root rot of *Poinsettia* with *Burkholderia* and binucleate *Rhizoctonia*. **Plant Disease**, v. 86, p. 47-53, 2002.
- LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; MARTINS, I.; BRAÚNA L. M. Potencial antagonístico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes ecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropical**, v. 9, n. 3, p. 145-149, 2009.
- LUCON, C. M. M. Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp (em linha). **Infobibos, Informações Tecnológicas**, 2009. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_1/trichoderma/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm)> Acesso em: 30 mar. 2019.
- LUZ, W. C. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 16-20, 2001.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MACHADO, R. G.; SÁ, E. L. S.; DAMASCENO, R. G.; HAHN, L.; ALMEIDA, D.; MORAES, T.; CAMARGO, F. A. O.; REARTES, D. S. Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e *Avena strigosa* Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. **Revista Ciência e Natura**, v. 33, n. 2, p. 111-126, 2011.
- MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle biológico de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE: Imprensa Universitária, 2005. p. 303-322.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle Biológico**. Jaguaruina: Embrapa Meio Ambiente, 1998. v. 1, p. 17-60.
- MELO, I. S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguaruina: Embrapa-CNPDA, 1991. p.135-156.
- MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, p. 261-295, 1996.
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. M.; MENEZES, M. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE: Imprensa Universitária, 2005. p. 1-18.
- MILANESI, P. M. **Aspectos biológicos da interação *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. em solo compactado de aveia preta e soja sob plantio direto**. 2012. 131p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria.
- PEREIRA, A. I. A.; CURVELO, C. R. S.; BANDEIRA, C. M. **Controle biológico na agricultura**. Areia, PB: Movimento Agroecológico, 2007. 175 p.
- PIERSON, E. A.; WELLER, D. M. Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress Take-all and improve the growth of wheat. **Phytopathology**, v. 84, p. 940-947, 1994.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas: uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguaruina: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 238-244.
- PRADEBON, P. R. **Avaliação de aplicação de *Trichoderma* spp. na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 2016. 29 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí.
- PUFAL, J. R. **Tratamento de sementes e fungicidas foliares no controle da ferrugem e da mancha amarela e sobre variáveis de rendimento em trigo**. 2017. 49 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo.
- RAUPACH, G. S.; KLOEPPER, J. W. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. **Phytopathology**, v. 88, p. 1158-1163, 1998.
- RESENDE, M. L.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; PINHO, R. G.; VIEIRA, A. R. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 4, p. 793-798, 2004.
- ROMEIRO, R. S. **Controle biológico de doenças de plantas: procedimentos**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 172 p.

SCUDELER, F.; VENEGAS, F. *Trichoderma harzianum* associado ou não a fungicidas em tratamento de sementes na cultura do milho (*Zea mays* L.). Valinhos, SP. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 16, n. 5, p. 9-19, 2012.

SNEH, B.; ICHIELEVICH-AUSTER, M. Induced resistance of cucumber seedlings caused by some non-pathogenic *Rhizoctonia* (np-R) isolates. **Phytoparasitica**, v. 26, n. 1, p. 27-38, 1998.

STADNIK, M. J.; BETTIOL, W. Controle biológico de oídeos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.) **Controle biológico**: v.3. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 95-112.

WAGATSUMA, E.; SANTOS, J. I.; ROGÉRIO, F.; SILVA, T. R. B. Influência de *Azospirillum brasilense* e *Trichoderma harzianum* na cultura do milho. Cascavel, PR. **Cultivando Saber**, v. 5, n. 3, p. 132-141, 2012.

WHEELER, T.; RUSH, C. M. Soilborne diseases. In: MALOY, O. C.; MURRAY, T. D. (Eds.) **Encyclopedia of Plant Pathology**. New York: John Wiley & Sons, 2001. p. 933-947.



# Pudrición blanca en soja - ensayos cooperativos

*Maurício Conrado Meyer*

*Hercules Diniz Campos*

*Claudia Vieira Godoy*

*Carlos Mitinori Utiamada*

*José Nunes Junior*

*Marcio Marcos Goussain Junior*

*David de Souza Jaccoud Filho*

*Fernando Cezar Juliatti*

*Mônica Cagnin Martins*

*Wilson Story Venancio*

*Luciana Celeste Carneiro*

*Luís Henrique Carregal Pereira da Silva*

*Alfredo Ricieri Dias*

*Edson Pereira Borges*

*Margarida Fumiko Ito*

## Introducción

La pudrición blanca, causado por el hongo *Sclerotinia sclerotiorum*, es una enfermedad conocida desde hace mucho tiempo que afecta a numerosos cultivos de importancia económica en el mundo (Jaccoud Filho et al., 2017).

En Brasil, su incidencia en cultivos de soja ha aumentado considerablemente hace más de una década, y se estima que alrededor del 28% del área de producción de soja en Brasil está infestada por este patógeno (Meyer et al., 2018). La enfermedad puede reducir la productividad de la soja hasta en un 70% en las zonas de mayor incidencia, si no se adoptan medidas de manejo integrado (Meyer et al., 2017).

La principal característica de *S. sclerotiorum* es la formación de esclerocios, estructuras de supervivencia que permanecen en el suelo y constituyen la fuente de inóculo inicial para el cultivo subsiguiente. La germinación de los esclerocios en el suelo puede ocurrir de dos formas: micelogénica – cuando el micelio se forma a través de los microporos de los esclerocios, o carpogénica – cuando hay formación de apotecios (Görgen et al., 2010; Reis et al., 2019).

La infección de las plantas de soja se produce principalmente por las ascosporas del hongo, que se producen en los apotecios, como resultado de la germinación carpogénica de los esclerocios. Con preferencia, estas ascosporas colonizan los pétalos, los cuales sirven de sustrato para el desarrollo del patógeno y el inicio de la infección en los tallos y pecíolos (Grau; Hartman, 2015).

En condiciones de campo, los esclerocios pueden ser parasitados por hongos y bacterias y así perder viabilidad. Entre estos microorganismos, algunas especies del hongo *Trichoderma* y la bacteria *Bacillus* se destacan entre los antagonistas más eficientes para controlar los patógenos que habitan en el suelo (Görge et al., 2010). Existen más de 30 formulaciones comerciales de biofungicidas registradas en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento – Mapa – y en uso en cultivos de soja en Brasil (Agrofit, 2003c). La aplicación de los antagonistas debe realizarse antes de que germinen los esclerocios, es decir, cuando los esclerocios aún están en fase de reposo en el suelo (Meyer, 2013; Meyer et al., 2013).

La eficacia del control biológico depende de que ocurran las condiciones ambientales similares a las que favorecen la germinación de los esclerocios (alta humedad del suelo, temperatura del aire entre 15 °C y 25 °C y baja incidencia de la luz solar) para el establecimiento de los agentes de control biológico, cuyas estructuras reproductivas son aún más sensibles y dependientes de estas condiciones. Por ello, se ha demostrado que el sistema de siembra directa sobre pasto de gramíneas es un requisito previo para el éxito de esta medida de control (Campos et al., 2010; Görge et al., 2010; Reis et al., 2019).

La red de ensayos cooperativos para el control biológico de la pudrición blanca en la soja fue concebida y propuesta en el V Congreso Brasileño de la Soja, en 2009, compuesta por varias instituciones de investigación públicas y privadas y empresas que fabrican productos biológicos.

Con el objetivo de generar información sobre la eficiencia de los biofungicidas para complementar las recomendaciones de manejo de enfermedades, se iniciaron ensayos cooperativos en el ciclo 2009/10. Los resultados fueron incompletos en los dos primeros años, debido a la baja presión de la enfermedad y a la evaluación únicamente del efecto del control de la enfermedad en la planta, sin evaluar el efecto de los biofungicidas sobre la viabilidad de los esclerocios, que es el objetivo principal del control biológico en el patosistema *S. sclerotiorum* – soja.

A partir del ciclo 2012/13, se redefinió y mejoró el método de evaluación de ensayos, tal como se presenta en el capítulo 13 de este libro, dada la necesidad de verificar el efecto de los tratamientos sobre la viabilidad de los esclerocios. A partir del ciclo 2015/16 se dejaron de incluir los análisis conjuntos, datos de incidencia de la pudrición blanca en soja, productividad de soja y producción de esclerocios en plantas.

### **Resultados de la Red Cooperativa de Ensayos de Control Biológico de la pudrición blanca en soja**

Los resultados que se presentan a continuación se publicaron originalmente en Meyer et al. (2016a y 2016b).

### Ciclo de cultivo 2012/13

Durante el ciclo de cultivo 2012/13, el ensayo de la red se realizó en ocho localidades, en los estados de Goiás (cuatro ensayos), Mato Grosso do Sul (un ensayo), Minas Gerais (un ensayo) y Paraná (dos ensayos), en un sistema de siembra directa sobre mantillo de gramíneas. Los tratamientos evaluados se muestran en la Tabla 1.

La incidencia de la pudrición blanca en el testigo (13,1%) no fue lo suficientemente alta como para detectar algún posible efecto adicional de eficiencia del control biológico, en relación al tratamiento con el fungicida fluazinam (Tabla 2).

En el análisis de germinación carpogénica, a excepción del tratamiento T4 (*Trichoderma asperellum*), todos los demás superaron al testigo en la reducción de la producción de apotecios, con aplicación de agentes de biocontrol, presentando un control del 11% al 17%. Con dos aplicaciones, solo los tratamientos con *T. harzianum* (T2), *T. asperellum* (T4), *B. pumilus* (T7) y lignosulfonato (T5) mostraron mayores reducciones en la germinación carpogénica en comparación con el testigo (T1), con índices de control que variaron del 19% al 24% (Tabla 3).

En cuanto a la colonización de esclerocios por el hongo *Trichoderma* spp., no se observó aumentos cuando se hizo una sola aplicación del biofungicida, pero con dos aplicaciones, todos los tratamientos mostraron porcentajes más altos de esclerocios colonizados, superando al testigo (T1) en el orden de 13% a 26% (Tabla 3).

Al compararse los porcentajes de esclerocios no viables en el tratamiento control (T1), se observó un aumento de casi seis veces en la mortalidad de los esclerocios que permanecieron más tiempo en campo (muestras recolectadas después de la segunda aplicación), en relación a los que fueron recolectadas con anticipación. Sin embargo, el aumento en el porcentaje de esclerocios no viables, con relación al testigo, ocurrió en solo dos tratamientos (T4 - *T. asperellum* y T5 - lignosulfonato) después de la primera aplicación de biofungicidas, variando del 7,1% al 9,3%. Con dos aplicaciones, este aumento se presentó en cuatro tratamientos (T3 - *T. asperellum*, T4 - *T. asperellum*, T6 - *T. harzianum* y T7 - *B. pumilus*), variando de 7,1% a 9,3% (Tabla 3).

**Tabla 1.** Producto comercial, ingrediente activo, época de aplicación, dosis de producto comercial (p.c.) y concentración de ingrediente activo (i.a.) de los tratamientos evaluados en el ensayo cooperativo de control biológico de la pudrición blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*) en soja, ciclo 2012/13.

Producto comercial (p.c.)	Ingrediente activo (i.a.)	Época de aplicación				Dosis del p.c. (L-kg/ha)	Concentración del i.a. <sup>1</sup>
		1°	2°	3°	4°		
1 Testigo	-	-	-	-	-	-	-
2 Trichodermil, Koppert	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	-	-	1	2 x 10 <sup>9</sup>
Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	1	50%

3	Trichodermax, Novozymes	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	-	-	1	1,5 x 10 <sup>9</sup>
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	0,1	50%
4	Quality, Farroupilha	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	-	-	1	1 x 10 <sup>10</sup>
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	1	50%
5	PNR <sup>2</sup> , Nortox	Lignosulfonato	V2	V4	-	-	1	-
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	0,1	50%
6	Ecotrich, Ballagro	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	-	-	1	1 x 10 <sup>10</sup>
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	4	50%
7	PNR <sup>2</sup> , Bayer	<i>Bacillus pumilus</i>	V2	V4	-	-	1	14,35 g/L
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA	1	50%
8	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	10 DAA		50%

<sup>1</sup>Concentración mínima de conidios de *Trichoderma* o UFC por mL o g de producto. <sup>2</sup>PNR= producto no registrado en el Mapa para el cultivo de soja.

**Tabla 2.** Análisis conjunto de evaluaciones de incidencia de la pudrición blanca en etapa R6 (Incid.) y porcentaje relativo de control (C), de la productividad de la soja (Prod.) y reducción de rendimiento (%RP), peso de los esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* (P. Esc.) y el porcentaje relativo de producción de esclerocios (Pr. Esc.) de los ensayos cooperativos de control biológico de la pudrición blanca en soja, ciclo 2012/13.

Tratamientos		Incid. <sup>1</sup>	% C	Prod. <sup>2</sup>	%RP	P.Esc. <sup>3</sup>	%Pr. Esc.
1. Testigo	-	13,1a	0	3293b	12	3005a	0
2. Trichodermil/ Frownicide	<i>T. harzianum</i> /fluazinam	1,8c	86	3715a	1	486b	84
3. Trichodermax/ Frownicide	<i>T. asperellum</i> /fluazinam	1,2c	91	3692a	1	302b	90
4. Quality/ Frownicide	<i>T. asperellum</i> /fluazinam	1,6c	87	3612a	4	486b	84
5. PNR <sup>4</sup> / Frownicide	lignosulfonato/fluazinam	1,2c	91	3640a	3	358b	88
6. Ecotrich/ Frownicide	<i>T. harzianum</i> /fluazinam	0,9c	93	3745a	0	158b	95
7. PNR <sup>4</sup> / Frownicide	<i>B. pumilus</i> /fluazinam	7,2b	45	3630a	3	301b	90
8. Frownicide	fluazinam	1,6c	87	3733a	0	402b	87
C.V (%)		37,4		7,97		49,7	

<sup>1</sup>Promedio de tres localidades; <sup>2</sup>Promedio de cuatro localidades; <sup>3</sup>Promedio de dos localidades; <sup>4</sup>PNR= producto no registrado en el Mapa para el cultivo de soja. Promedios seguidos de las mismas letras dentro de una columna no difieren de acuerdo con la prueba de Tukey (p < 0,05).

**Tabla 3.** Viabilidad de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* después de una y dos aplicaciones de biofungicidas, evaluada a través de los porcentajes de germinación carpogénica, colonización de esclerocios por *Trichoderma* spp. y esclerocios no viables, y sus respectivos porcentajes de testigo (%C) y diferenciales ( $\Delta\%$ ) en relación al testigo sin aplicación de biocontroladores, ciclo 2012/13.

Tratamientos		Germinación carpogénica (%)				Colonización por <i>Trichoderma</i> (%)				Esclerocios inviables (%)			
		1 aplic. <sup>1</sup>	% C	2 aplic. <sup>1</sup>	%C	1 aplic. <sup>2</sup>	$\Delta\%$	2 aplic. <sup>2</sup>	$\Delta\%$	1 aplic. <sup>3</sup>	$\Delta\%$	2 aplic. <sup>3</sup>	$\Delta\%$
1. Testigo	-	63,5a	0	49,2	0	43,3a	-	36,7d	-	5,0cd	-	31,5c	-
2. Trichodermil	<i>T. harzianum</i>	55,0b	13	39,7 c	19	30,0b	0	60,3ab	24	8,9abcd	3,9	33,6 c	2,1
3. Trichodermax	<i>T. asperellum</i>	56,0b	12	46,3b	6	18,3c	0	63,1a	26	3,7d	0	38,9ab	7,4
4. Quality	<i>T. asperellum</i>	58,7ab	8	40,0c	19	36,7b	0	58,1b	21	12,1ab	7,1	38,6ab	7,1
5. PNR <sup>5</sup>	lignosulfonato	56,5b	11	37,2c	24	11,7c	0	49,9c	13	14,3a	9,3	34,7bc	3,2
6. Eco-trich	<i>T. harzianum</i>	52,7b	17	54,2a	0	13,3c	0	52,2c	16	5,7bcd	0,7	38,9ab	7,4
7. PNR <sup>5</sup>	<i>B. subtilis</i>	54,0b	15	38,2c	22	43,3a	0	51,3c	15	11,1abc	6,1	40,3a	8,8
C.V (%)		12,5		14,0		30,7		16,2		92,7		23,7	

<sup>1</sup>Promedio de cinco ubicaciones; <sup>2</sup>Promedio de seis sitios; <sup>3</sup>Promedio de tres sitios; <sup>4</sup>Promedio de seis sitios; <sup>5</sup>PNR= producto no registrado en el Mapa para el cultivo de soja. Medias seguidas de letras iguales en las columnas no difieren de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### Ciclo 2013/14

El ensayo cooperativo para el control biológico de la pudrición blanca en soja, correspondiente al ciclo 2013/14, se realizó en diez sitios en los estados de Goiás (cinco ensayos), Mato Grosso do Sul (un ensayo), Minas Gerais (un ensayo), Paraná (dos ensayos) y Bahía (un ensayo).

Se realizaron dos aplicaciones de agentes de biocontrol al inicio de la etapa vegetativa, siendo los tratamientos compuestos por cuatro formulaciones de propágulos de *T. harzianum*, una de *T. asperellum*, una de *B. subtilis* y una formulación de lignosulfonato a partir de extractos vegetales seguido de una aplicación de fluazinam en la etapa R1. También se consideró un tratamiento sin control de la enfermedad y un tratamiento con la aplicación de fluazinam (tabla 4).



**Tabla 4.** Producto comercial, ingrediente activo, 3poca de aplicaci3n, dosis de producto comercial (p.c.) y concentraci3n de ingrediente activo (i.a.), de los tratamientos evaluados en el ensayo cooperativo de control biol3gico de la pudrici3n blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*) en soja, ciclo 2013/14.

	Producto comercial (p.c.)	Ingrediente activo (i.a.)	3poca de la aplicaci3n			Dosis p.c.	Concentraci3n
			2°	3°	4°	i.a. <sup>1</sup>	
1	1 Testigo	-	-	-	-	-	-
2	Trichodermil, Koppert	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	-	1	2 x 10 <sup>9</sup>
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
3	PNR, Koppert	<i>T. harzianum</i>	V2	V4		1	2 x 10 <sup>9</sup>
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
4	PNR, Simbiose	<i>T. harzianum</i>	V2	V4		1	1 x 10 <sup>9</sup>
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
5	Quality, Farroupilha	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	-	0,1	1 x 10 <sup>10</sup>
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
6	PNR, Nortox	Lignosulfonato	V2	V4	-	1	-
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
7	Ecotrich, Ballagro	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	-	0,1	1 x 10 <sup>10</sup>
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
8	Serenade, Bayer	<i>Bacillus subtilis</i>	V2	V4	-	4	14,35 g/L
	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%
9	Frownicide, ISK	fluazinam	-	-	R1	1	50%

<sup>1</sup>Concentraci3n m3nima de conidios o UFC por mL o g de producto. PNR= producto no registrado en el Mapa para el cultivo de soja.

Se observ3 una incidencia promedio de la pudrici3n blanca de 26,7% en el tratamiento sin control de la enfermedad (T1), en las localidades con mayor homogeneidad de resultados. Todos los tratamientos, tanto aquellos con aplicaci3n de biofungicidas y fluazinam (T2 a T8) como el tratamiento que recib3 solo fluazinam (T9), superaron al tratamiento control (sin aplicaci3n) (T1) en la reducci3n de la incidencia de la pudrici3n blanca, pero no mostraron diferencias entre s3. Los porcentajes de control de la enfermedad oscilaron entre 48% y 63% (Tabla 5).

Cinco localidades fueron incluidas en los resultados del an3lisis de rendimiento de soja, observ3ndose una reducci3n del rendimiento del 13% en el tratamiento control (T1). Al igual que se observ3 para la incidencia de la pudrici3n blanca, todos los tratamientos fueron superiores al testigo sin control (T1), pero no difirieron entre s3 (Tabla 5).

En el caso del peso de los esclerocios producidos por tratamiento, solo una localidad mostró resultados consistentes (Ponta Grossa, PR) y se registró la producción de hasta 8,9 kg de esclerocios por hectárea, pero no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos, ni siquiera en relación con el control sin control (T1) (Tabla 5).

**Tabla 5.** Análisis conjunto de las evaluaciones de incidencia de la enfermedad en estadio R6 (Incid.) y porcentaje relativo de control (%C), de productividad de la soja (Prod.) y reducción de la productividad (%RP), de peso de los esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* (P. Esc.) y el porcentaje relativo de producción de esclerocios (%PR. Esc.) de los ensayos cooperativos de control biológico de la pudrición blanca en soja – ciclo 2013/14.

Tratamientos		Inc. <sup>1</sup>	%C	Prod. <sup>2</sup>	%RPR	P. Escl. <sup>3</sup>	%PR. Escl
1. Testigo	-	26,7 a	0	2856 b	13	8897 a	0
2. Trichodermil/Frownicide	<i>T. harzianum</i> /fluazinam	11,5 b	57	3218 a	2	8471 a	5
3. PNR <sup>4</sup> /Frownicide	<i>T. harzianum</i> /fluazinam	11,7 b	56	3263 a	1	6046 a	32
4. PNR <sup>4</sup> /Frownicide	<i>T. harzianum</i> /fluazinam	12,3 b	54	3156 a	4	4698 a	47
5. Quality/Frownicide	<i>T. asperellum</i> /fluazinam	11,9 b	55	3159 a	4	4205 a	53
6. PNR <sup>4</sup> /Frownicide	lignosulfonato/fluazinam	13,1 b	51	3291 a	0	8104 a	9
7. Ecotrich/Frownicide	<i>T. harzianum</i> /fluazinam	10,4 b	61	3289 a	0	8536 a	4
8. Serenade/Frownicide	<i>B. subtilis</i> /fluazinam	13,8 b	48	3159 a	4	4228 a	52
9. Frownicide	fluazinam	9,8 b	63	3155 a	4	6273 a	29
C.V. (%)		54,8		11,0		53,2	

<sup>1</sup>Promedio de tres localidades; <sup>2</sup>Promedio de seis localidades; <sup>3</sup>Promedio de una localidad. <sup>4</sup>PNR= producto no registrado en el Mapa para el cultivo de soja. Promedios seguidas de las mismas letras en las columnas no difieren de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ).

Los resultados del análisis de germinación carpogénica de esclerocios de *S. sclerotiorum* mostraron que todos los tratamientos donde se aplicaron agentes de biocontrol redujeron el porcentaje de formación de apotecios, con una reducción entre el 12% y 22% al hacer una aplicación en los tratamientos T2, T3 y T5 y una variación de 52% a 63% de reducción con dos aplicaciones de los tratamientos T6, T7 y T8 (Tabla 6).

Los resultados de la cuantificación de la colonización de los esclerocios por *Trichoderma* spp. reveló que el tratamiento T2 presentó los mayores porcentajes de colonización con una y dos aplicaciones, seguido de los tratamientos T3, T4 y T5 con solo una aplicación (Tabla 6).

El tratamiento T5 presentó los mayores porcentajes de esclerocios inviables después de una y dos aplicaciones, con 90% y 65%, respectivamente, seguido del tratamiento T6, con 83% de esclerocios inviables después de una sola aplicación (Tabla 6).

**Tabla 6.** Viabilidad de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* después de una y dos aplicaciones de biofungicidas, evaluados en gerboxes con suelo, mediante el porcentaje de germinación carpogénica, colonización de esclerocios por *Trichoderma* spp. y porcentaje de esclerocios inviables y sus respectivos porcentajes de control (%C) y diferenciales (%Δ) con relación al control sin aplicación de biocontroladores. Ciclo 2013/14.

	Germinación carpogénica <sup>1</sup> (%)			Colonización por <i>Trichoderma</i> spp. <sup>1</sup>				Esclerocios inviables <sup>1</sup>				C %
	C %	2 aplic.		C %	1 aplic.	%	2 aplic.	%	1 aplic.	%	2 aplic.	
Testigo	70,8a	0	52,8a	0	43,0d	-	47,5e	-	17,8e	0	29,9e	0
Trichodermil ( <i>T. harzianum</i> )	60,0cd	15	29,6cd	44	71,8a	67	88,6a	86	22,6cd	27	43,0b	44
PNR <sup>2</sup> ( <i>T. harzianum</i> )	55,4d	22	31,9bcd	40	66,0ab	53	83,8b	76	22,2cd	25	37,0cd	24
PNR <sup>2</sup> ( <i>T. harzianum</i> )	63,2bc	11	38,8b	27	63,0ab	47	73,6c	55	19,6de	11	40,3bc	35
Quality ( <i>T. asperellum</i> )	62,0bcd	12	36,1bc	32	64,5ab	50	74,6c	57	33,7a	90	49,2a	65
PNR <sup>2</sup> (lignosulfonato) 63,8	63,8bc	10	20,1e	62	56,8bc	32	63,5d	34	32,4a	83	33,3de	11
Ecotrich ( <i>T. harzianum</i> )	65,5abc	7	25,2de	52	42,5d	0	59,9d	26	28,8b	62	31,8e	6
Serenade ( <i>B. subtilis</i> )	66,9ab	6	19,8e	63	47,3cd	10	63,4d	33	25,5bc	44	42,0b	40
C.V. (%)	13,9		24,7		17,6		7,9		15,3		11,5	

<sup>1</sup>Promedio de diez localidades; <sup>2</sup>PNR= producto no registrado en el Mapa para soja; aplic. = aplicación. Valores promedio seguidos de las mismas letras en las columnas no difieren de acuerdo con la prueba de Tukey (p < 0.05).

## Ciclo 2014/15

El ensayo cooperativo de control biológico de la pudrición blanca en soja del ciclo 2014/15 se realizó en diez localidades en los estados de Goiás (cinco ensayos), Mato Grosso do Sul (un ensayo), Minas Gerais (un ensayo), Paraná (dos ensayos) y Bahía (un ensayo).

En este ciclo de cultivo, el diseño experimental del ensayo fue cambiado a un diseño de bloques completos al azar, con parcelas experimentales de al menos seis líneas de 10 m de largo, divididas en subparcelas de seis líneas de 5 m de largo y cuatro repeticiones. Los tratamientos con los productos de biocontrol se aplicaron en toda la parcela experimental, con aplicación del fungicida fluazinam solo en la mitad de cada parcela (subparcela). Los tratamientos estuvieron compuestos por tres formulaciones de *T. harzianum*, una formulación de *T. asperellum*, una formulación de *B. pumilus*, una formulación de *B. amyloliquefaciens* y una asociación de L-aminoácidos con lignosulfonato de origen vegetal (Tabla 7).

**Tabla 7.** Principio activo, producto comercial, concentración de principio activo (i.a.), dosis de producto comercial (p.c.) y época de la aplicación de los tratamientos evaluados en el ensayo cooperativo de control biológico de la pudrición blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*) en soja, Ciclo 2014/2015.

Producto comercial (p.c.)	Ingrediente activo (i.a.)	Época de la aplicación			Dosis del p.c. i.a. <sup>1</sup>	Concentración
		2º	3º	L-kg/ha		
Testigo	-	-	-	-	-	-
1 Frownicide (sp) <sup>2</sup>	Fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
2 Trichodermil (pt) <sup>3</sup>	<i>T. harzianum</i> , Koppert	V2	V4	-	1	2 x 10 <sup>9</sup>
Frownicide (sp)	Fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
3 PNR <sup>4</sup> (pt)	<i>T. harzianum</i> , Simbiose	V2	V4	-	1	1 x 10 <sup>9</sup>
Frownicide (sp)	Fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
4 Quality (pt)	<i>T. asperellum</i> , Farroupilha	V2	V4	-	0,1	1 x 10 <sup>10</sup>
Frownicide (sp)	Fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
5 PNR + PNR (pt)	L-aminoácidos + lignossulfonato,	V2	V4	-	0,25+0,5	-
Frownicide (sp)	Fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
6 Ecotrich (pt)	<i>T. harzianum</i> , Ballagro	V2	V4	-	0,1	1x 10 <sup>10</sup>
Frownicide (sp)	Fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
7 PNR (pt)	<i>B. pumilus</i> , Bayer	V2	V4	-	4	14,35 g/L
Frownicide (sp)	Fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
8 PNR (pt)	<i>B. amyloliquefaciens</i> , BASF	V2	V4	-	0,5	5,5 x 10 <sup>10</sup>
Frownicide (sp)	Fluazinam, ISK	-	-	R1	1	50%
Frownicide (sp)	Fluazinam, ISK	-	-	-	-	50%

<sup>1</sup>Concentración mínima de conidios de *Trichoderma* por mL o g de producto; <sup>2</sup>sp= tratamiento aplicado a la subparcela; <sup>3</sup>pt= tratamiento aplicado en la parcela total; <sup>4</sup>PNR= producto no registrado en el Mapa para el cultivo de soja

Durante el ciclo 2014/15, la incidencia de la pudrición blanca fue extremadamente baja, afectada principalmente por la falta de lluvias en el período de prefloración hasta el inicio de la formación del grano de soja. De las diez localidades donde se realizaron los ensayos, cinco no tuvieron incidencia de la enfermedad, dos tuvieron una incidencia inferior a 10% y tres sitios tuvieron una incidencia superior a 20%, siendo estos últimos los utilizados en los análisis conjuntos.

No se observaron diferencias en la incidencia de la pudrición blanca entre tratamientos en las subparcelas que recibieron aplicación del fungicida fluazinam. El testigo absoluto (T1), sin aplicación de biofungicidas y fluazinam, tuvo una incidencia de 23,4%, siendo este un valor

promedio de solo dos localidades. No hubo diferencia en la incidencia entre tratamientos en las subparcelas sin fluazinam, pero estos superaron al control T1, con un porcentaje de control que va del 44% al 77% (Tabla 8).

En cuanto a la productividad de soja, no hubo diferencia entre tratamientos, independientemente de la aplicaci3n de fluazinam (Tabla 8).

**Tabla 8.** An3lisis conjunto de las evaluaciones de la incidencia de la enfermedad en estadio R6 (Incid.) y porcentaje relativo de control (%C), de productividad de soja (Prod.) y reducci3n de la productividad (%RP), de ensayos cooperativos de control biol3gico de la pudrici3n blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*) en soja, de subparcelas con y sin aplicaci3n de fluazinam en etapa R1 – ciclo 2014/15.

Tratamientos Incid. <sup>1</sup>	Con fluazinam		Sin fluazinam		Con fluazinam		Sin fluazinam		
	%C	Incid. <sup>1</sup>	%C	Prod. <sup>2</sup>	%RP	Prod. <sup>2</sup>	%RP		
1. Testigo	6,09 a	0	23,4a	0	3852 a	4,6	3773a	2,8	
2. Tricho- dermil	<i>T. harzianum</i>	7,50 a	0	9,5b	60	4039 a	0,0	3674a	5,4
3. PNR <sup>3</sup>	<i>T. asperellum</i>	5,16 a	15	10,0b	57	3892 a	3,6	3883a	0,0
4. Quality	<i>T. asperellum</i>	4,38 a	28	11,1b	53	3832 a	5,1	3849a	0,9
5. PNR	aminoac.+lignosulf.	6,41 a	0	9,5b	60	3866 a	4,3	3754a	3,3
6. Ecotrich	<i>T. harzianum</i>	6,88 a	0	11,9b	49	3963 a	1,9	3842a	1,1
7. PNR	<i>B. pumilus</i>	3,75 a	38	12,5b	47	3987 a	1,3	3783a	2,6
8. PNR	<i>B. amyloliquefaciens</i>	5,63 a	8	13,1b	44	4031 a	0,2	3801a	2,1
9. Frownicide	fluazinam	5,63 a	8	5,5b	77	3555 a	12,0	3854a	0,7
C.V. (%)		72,8		50,0		7,5		7,5	

<sup>1</sup>Promedio de dos localizaciones; <sup>2</sup>Promedio de dos localizaciones; <sup>3</sup>PNR= producto no registrado en el Mapa para el cultivo de soja. Incid. = incidencia.

Promedios seguidos de la misma letra dentro de una columna no mostraron diferencias de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Los resultados del an3lisis de germinaci3n carpog3nica de los esclerocios de *S. sclerotiorum* mostraron que todos los tratamientos con agentes de biocontrol redujeron el porcentaje de formaci3n de apotecios en relaci3n al tratamiento testigo (T1), con reducci3n del 49% al 75% despu3s de una aplicaci3n en los tratamientos y de 55% a 89% despu3s de dos aplicaciones de biofungicidas (Tabla 9).

Los tratamientos T2 y T4 presentaron los mayores porcentajes de colonizaci3n de los esclerocios por *Trichoderma* spp. en las evaluaciones realizadas despu3s de una aplicaci3n y despu3s de dos aplicaciones, las mayores tasas de colonizaci3n se presentaron con los tratamientos T3 y T4 (Tabla 9).

Todos los tratamientos con aplicaci3n de biofungicidas proporcionaron un aumento de mortalidad de los esclerocios con relaci3n al control (T1), presentando porcentajes del 32% al

51 %. En los tratamientos con dos aplicaciones, solo el tratamiento T3 no difirió del control T1, observándose el mayor índice de esclerocios no viables (44%) en el tratamiento T7 (Tabla 9).

**Tabla 9.** Viabilidad de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum* después de una y dos aplicaciones de biofungicidas, evaluados en gerboxes con suel, mediante los porcentajes de germinación carpogénica, colonización de esclerocios por *Trichoderma* spp. y porcentaje de esclerocios no viables y sus respectivos porcentajes de control (%) y diferenciales (%Δ) con relación al control sin aplicación de agentes de biocontrol. Ciclo 14/15.

Tratamientos	Germinación carpogénica (%)				Colonización por <i>Trichoderma</i> spp. (%)				Esclerocios no viables <sup>1</sup>			
	1 aplic. <sup>1</sup>	%C	2 aplic. <sup>2</sup>	%C	1 aplic. <sup>3</sup>	%	2 aplic. <sup>4</sup>	%	1 aplic. <sup>5</sup>	%	2 aplic. <sup>6</sup>	%
1. Testigo	45,1a	0	10,6 a	0	26,1 f	-	43,9 e	-	29,8 c	-	38,5 e	-
2. <i>T. harzianum</i>	12,0c	73	4,8 b	55	59,0 a	126	75,0 b	71	41,0 ab	38	44,8 cd	16
3. <i>T. asperellum</i>	20,3bc	55	4,5 bc	57	43,9 c	68	76,3 ab	74	40,8 ab	37	41,6 de	8
4. <i>T. asperellum</i>	17,6bc	61	1,2 d	89	55,7 ab	113	80,0 a	82	44,9 a	51	48,1 bc	25
5. Aminoac. + lignosulf.	23,0b	49	1,9 cd	82	32,5 e	24	64,9 cd	48	40,6 b	36	48,7 bc	26
6. <i>T. harzianum</i>	11,1c	75	2,8 bcd	73	52,9 b	103	74,6 b	70	40,8 ab	37	50,0 b	30
7. <i>B. pumilus</i>	13,1c	71	2,4 bcd	77	35,7 de	37	61,8 d	41	40,3 b	35	55,4 a	44
8. <i>B. amylolique-faciens</i>	12,0 <sup>c</sup>	73	1,2 d	89	37,0 d	42	67,1 c	53	39,2 b	32	49,8 b	29
C.V. (%)	68,9		60,7		13,2		10,3		15,5		12,6	

<sup>1</sup>Promedio de cuatro localidades; <sup>2</sup>Promedio de tres localidades; <sup>3</sup>Promedio de nueve localidades; <sup>4</sup>Promedio de diez localidades; <sup>5</sup>Promedio de nueve localidades; <sup>6</sup>Promedio de nueve localidades; aplic. = aplicación.

Valores promedio seguidos de letras iguales dentro de una columna no mostraron diferencias de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### Ciclo 2015/16

Los ensayos del ciclo 2015/16 fueron instalados en 13 localidades distribuidas en los estados de Goiás (siete ensayos), Bahía (un ensayo), Mato Grosso do Sul (un ensayo), Mato Grosso (un ensayo), Minas Gerais (un ensayo) y Paraná (dos ensayos).

Se hicieron dos aplicaciones de los agentes de biocontrol al inicio de la etapa vegetativa, en las etapas V2 y V4 de las plantas, respectivamente. Los tratamientos consistieron en cuatro formulaciones de propágulos de *T. harzianum*, dos de *T. asperellum*, uno de *B. subtilis*, uno de *B. pumilus* y un tratamiento testigo, sin aplicación de biofungicidas (Tabla 10).

A partir del ciclo 2015/16, en acuerdo con las empresas e investigadores participantes, Antes de los ensayos, ya no se realizaron análisis conjuntos de los efectos de los tratamientos

con los biofungicidas sobre el control de enfermedades, el rendimiento de soja y la producción de esclerocios en la planta, ya que estos parámetros no representan el objetivo de control efectivo.

**Tabla 10.** Tratamientos con biofungicidas, ingrediente activo, época de la aplicación, dosis de productos comerciales y concentración del principio activo del ensayo cooperativo para el control biológico de la pudrición blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*) en soja, ciclo 2015/16.

Producto comercial (p.c.)	Ingrediente activo (i.a.)	Época de aplicación		Dosis p.c. L-kg ha <sup>-1</sup>	Conc. i.a. <sup>1</sup>
		1°	2°		
1. Testigo	-	-	-	-	-
2. Trichodermil, Koppert	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	1	2 x10 <sup>9</sup>
3. StimuControl S, Simbiose	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	1	1x10 <sup>9</sup>
4. Quality, Farroupilha	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	0,1	1x10 <sup>10</sup>
5. Predatox, Ballagro	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	1	2x10 <sup>8</sup>
6. Ecotrich, Ballagro	<i>T. harzianum</i>	V2	V4	0,1	1x10 <sup>10</sup>
7. PNR <sup>2</sup> , Bayer	<i>B. pumilus</i>	V2	V4	4	14,35 g L <sup>-1</sup>
8. Serenade, Bayer	<i>B. subtilis</i>	V2	V4	2	13,68 g L <sup>-1</sup>
9. TrichoderMax, Novozymes	<i>T. asperellum</i>	V2	V4	1	1,5x10 <sup>9</sup>

<sup>1</sup>Concentración mínima de conidios o UFC del agente de biocontrol por mL o g de producto; <sup>2</sup>PNR = producto no registrado para el cultivo de soja en el Mapa.

En ninguno de los tratamientos se observó reducción en la germinación carpogénica con la aplicación de los biofungicidas. A excepción de los tratamientos T3 y T5 (formulaciones de *T. harzianum*), después de dos aplicaciones, el resto de los tratamientos mostraron una reducción de la germinación carpogénica en relación al testigo T1, con porcentajes de reducción que van desde el 67% al 100% (Tabla 11).

En cuanto a la colonización de esclerocios por *Trichoderma* spp. en los tratamientos con una aplicación, solo el tratamiento T9 (*T. asperellum*) mostró diferencias con relación al tratamiento control (T1). En las muestras que recibieron dos aplicaciones, los tratamientos T6 (*T. harzianum*) y T9 (*T. asperellum*) superaron al testigo T1, con mayores porcentajes de colonización por *Trichoderma* spp. (Tabla 11).

Con excepción del tratamiento T3 (*T. harzianum*), el resto no mostró diferencias con relación al control (T1) en cuanto a la inviabilidad de esclerocios por efecto de la aplicación de biofungicida. Con dos aplicaciones, los tratamientos T6 (*T. harzianum*) y T8 (*B. subtilis*)

promovieron las mayores tasas de mortalidad de esclerocios. En cuanto a la inviabilidad de esclerocios, los tratamientos T4 (*T. asperellum*), T5 (*T. harzianum*) y T7 (*B. pumilus*) también mostraron similitud con los tratamientos T6 y T8, pero no difirieron del control T1 (Tabla 11).

**Tabla 11.** Germinación carpogénica, porcentaje de control (%C), colonización de esclerocios por *Trichoderma* spp. y esclerocios no viables en ensayos cooperativos para el control biológico de la pudrición blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*) – Ciclo 2015/16.

Tratamientos	Germinación carpogénica (%)				Colonización por <i>Trichoderma</i> spp. (%)		Esclerocios inviables (%)	
	1 aplic. <sup>1</sup>	C (%)	2 aplic. <sup>2</sup>	C (%)	1 aplic. <sup>3</sup>	2 aplic. <sup>1</sup>	1 aplic. <sup>3</sup>	2 aplic. <sup>1</sup>
1. Testigo	24,6 a	0	14,2 a	0	8,5 b	16,5 bc	8,6 b	9,0 c
2. <i>T. harzianum</i>	21,1 a	14	4,6 b	68	16,3 ab	23,2 bc	13,3 ab	11,9 bc
3. <i>T. harzianum</i>	24,9 a	0	8,1 ab	43	12,0 b	15,5 bc	20,2 a	9,1 c
4. <i>T. asperellum</i>	15,0 a	39	4,7 b	67	17,6 ab	21,9 bc	13,2 ab	13,3 abc
5. <i>T. harzianum</i>	26,0	0	5,2 ab	64	13,3 ab	14,0 c	11,9 ab	14,7 abc
6. <i>T. harzianum</i>	17,5 a	29	4,7 b	67	12,2 b	37,4 a	15,3 ab	21,1 ab
7. <i>B. pumilus</i>	21,2 a	14	0,0 b	100	19,6 ab	13,8 c	13,8 ab	18,3 abc
8. <i>B. subtilis</i>	20,3 a	17	3,1 b	79	14,6 ab	28,0 ab	11,9 ab	22,6 a
9. <i>T. asperellum</i>	15,1 a	39	0,9 b	94	24,0 a	37,4 a	15,5 ab	13,5 abc
C.V. (%)	78,1		140,1		91,7	57,5	88,6	64,4

Valores promedio seguidos de letras iguales dentro de una columna no mostraron diferencias de acuerdo la con la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). <sup>1</sup>Promedio de seis localidades; <sup>2</sup>Promedio de tres localidades; <sup>3</sup>Promedio de ocho s localidades; aplic. = aplicación.

## Discusión y conclusiones de los resultados de la red de ensayos cooperativos – ciclo de cultivo 2012/13 a 2015/16

Las condiciones ambientales del suelo, favorables a la colonización e infección de los esclerocios de *S. sclerotiorum* por parte de los agentes de biocontrol, son un elemento fundamental para el éxito del control biológico de la pudrición blanca en el cultivo de soja. Este ambiente será ideal siempre y cuando se mantenga una alta humedad del suelo (por encima del 60% de la capacidad de campo), temperaturas frescas en la superficie del suelo (hasta 25 °C) y sombra de la superficie del suelo con mantillo verde o paja de gramíneas.

El sistema de siembra directa sobre mantillo es un requisito previo para lograr la eficiencia del control biológico de la pudrición blanca, proporcionando un adecuado acondicionamiento del suelo para el establecimiento de los microorganismos antagonicos de *S. sclerotiorum*, ya sean nativos o introducidos mediante la aplicación de productos formulados.



Las variaciones de los resultados entre ciclos de cultivo como entre ensayos dentro de un mismo ciclo no están relacionadas con la eficiencia de *Trichoderma* en el control de la enfermedad, pero demuestra que existe una dependencia de las condiciones ambientales específicas para el éxito del establecimiento del agente de biocontrol.

No se observó ganancia en la productividad de la soja en los ensayos con el uso de biofungicidas, sin embargo, la acción de los biofungicidas sobre los esclerocios de *S. sclerotiorum* fue positiva, promoviendo una reducción en el porcentaje de germinación carpogénica de hasta un 24% en el ciclo 2012/13, hasta un 63% en el ciclo 2013/14, hasta un 89% en el ciclo 2014/15 y hasta un 100% en el ciclo 2015/16. Considerando las formulaciones a base de *Trichoderma* spp., estos porcentajes fueron de hasta 19% en el ciclo 2012/13, hasta 52% en el ciclo 2013/14, hasta 89% en el ciclo 2014/15 y hasta 94% en el ciclo 2015/16, permitiendo así la reducción de la fuente de inóculo inicial para el cultivo subsiguiente. En condiciones de alta infestación por *S. sclerotiorum*, es necesario un manejo integrado, en combinación con el control químico, ya que, aunque sean pocos, los apotecios formados son capaces de producir suficientes ascosporas para infectar las plantas.

En la tabla 12 se presenta una comparación de los porcentajes de inhibición de la germinación carpogénica y miogénica de los esclerocios de *S. sclerotiorum* obtenidos en la red de ensayos. Comparando el testigo sin aplicación con el resto de tratamientos, los biofungicidas mostraron inhibición de la germinación carpogénica, variando desde 42% al 88%, cuando se analizaron los promedios de los tres ciclos. Sin embargo, para la germinación micelológica de esclerocios, los datos demuestran que no hubo incrementos en la inhibición de la germinación por la aplicación de biofungicidas.

Considerando que la infección de la soja por *S. sclerotiorum* ocurre principalmente como resultado de la germinación carpogénica, a través de las ascosporas, el efecto de los agentes de biocontrol en la inhibición de la germinación de los esclerocios es de gran importancia para el manejo de la enfermedad y para la reducción del inóculo inicial a lo largo de los años, y debe integrarse con otras medidas de control. La viabilidad de la integración del control biológico en el manejo de la pudrición blanca en soja debe ser mejor estudiado, principalmente en relación a sus mecanismos de acción y la determinación del momento adecuado de aplicación de los biofungicidas. Así, el control biológico, como herramienta para el manejo integrado de la pudrición blanca, busca lograr la reducción del inóculo inicial de *S. sclerotiorum* y, en consecuencia, aumentar el potencial productivo del cultivo de soja.

**Tabla 12.** Comparación de los porcentajes de control en comparación con tratamiento testigo (sin aplicación), en cuanto a la inhibición de la germinación carpogénica y miceliogénica de esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum*, en función de dos aplicaciones de agentes de biocontrol, en los ensayos cooperativos de control biológico de la pudrición blanca en soja, en tres ciclos de cultivo.

Parámetro/ciclo de cultivo	Trichoderma ( <i>T. harzianum</i> )	Quality ( <i>T. asperellum</i> )	Ecotrich ( <i>T. harzianum</i> )	PNR ( <i>T. harzianum</i> )	PNR ( <i>B. pumilus</i> )	Serenade ( <i>B. subtilis</i> )	PNR (tigrisulfonato)
<b>Inhibición de la germinación carpogénica (%)</b>							
Ciclo 2013/14	44	32	52	27	n. e.	63	62
Ciclo 2014/15	55	89	73	57	77	n. e.	82
Ciclo 2015/16	68	67	67	43	100	79	n. e.
<b>Promedio</b>	<b>56</b>	<b>63</b>	<b>64</b>	<b>42</b>	<b>88</b>	<b>71</b>	<b>72</b>
<b>Inhibición de la Germinación miceliogénica (%)</b>							
Ciclo 2012/13	0	0	15	n. e.	0	n. e.	6
Ciclo 2013/14	0	0	0	0	n. e.	0	0
Ciclo 2014/15	0	0	0	0	0	n. e.	0
<b>Promedio</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>

PNR = producto no registrado en el Mapa para el cultivo de soja; n.e.= no evaluado.

## Referencias

- AGROFIT: consulta abierta. Brasília, DF: Mapa, c2003. Disponible en: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acceso en: feb. 2019.
- CAMPOS, H. D.; SILVA, L. H. C. P.; MEYER, M. C.; SILVA, J. R. C.; NUNES JUNIOR, J. Mofobranco na cultura da soja e os desafios da pesquisa no Brasil. *Tropical Plant Pathology*, v. 35, p. C-CI, 2010. Suplemento.
- GÖRGEN, C. A.; HIKISHIMA, M.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; LOBO JUNIOR, M. Mofobranco (*Sclerotinia sclerotiorum*). In: ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S. (Ed.). *Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura*. Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 73-104.
- GRAU, C. R.; HARTMAN, G. L. *Sclerotinia stem rot*. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. *Compendium of soybean diseases and pests*. 5th ed. St. Paul, MN: APS, 2015. p. 59-62.
- JACCOUD FILHO, D. S.; NASSER, L. C. B.; HENNENBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; JULIATTI, F. C. Mofobranco: introdução, histórico, situação atual e perspectivas. In: JACCOUD FILHO, D. S.; HENNENBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G. (Eds.). *Mofobranco*. Ponta Grossa: Todopalavra, 2017. p. 29-73.
- MEYER, M. C. Resultados da rede de ensaios de controle biológico de mofobranco em soja. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13., 2013, Bonito. *Anais...* Brasília, DF: Embrapa, 2013. 1 CD-ROM.

MEYER, M. C.; MACHADO, T. A.; CRUZ, G. P. O.; ROCHA, M. B.; VENANCIO, W. S.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L. C.; CAMPOS, H. D.; SILVA, L. H. C. P.; BORGES, E. P. Efeito de tratamentos para biocontrole de mofo-branco sobre a viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 33., 2013, Londrina. **Resumos expandidos...** Brasília, DF: Embrapa, 2013. p. 124-126.

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M. (Eds.). **Ensaio cooperativos de controle biológico de mofo-branco na cultura da soja - safra 2012 a 2015**. Londrina: Embrapa Soja, 2016a. 46 p. (Embrapa Soja, Documentos, 368).

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; SILVA, L. H. C. P. da; GOUSSAIN, M.; MARTINS, M. C.; NUNES JUNIOR, J.; VENANCIO, W. S.; PIMENTA, C. B.; BORGES, E. P.; JACCOUD FILHO, D. S.; CARNEIRO, L. C.; JULIATTI, F. C. **Ensaio cooperativos de controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja**: resultados sumarizados da safra 2015/2016. Londrina: Embrapa Soja, 2016b. 5 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 124).

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; PIMENTA, C. B.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; JULIATTI, F. C.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, L. H. C. P.; SATO, L. N.; GOUSSAIN, M.; MARTINS, M. C.; TORMEN, N. R.; BALARDIN, R. S.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2016/17**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 5 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 133).

MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; SEIL, A. H.; DIAS, A. R.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; JULIATTI, F. C.; NUNES JUNIOR, J.; SILVA, L. H. C. P.; SATO, L. N.; MARTINS, M. C.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2017/18**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 5 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 140).

REIS, E. M.; ZANATTA, M.; REIS, A. C. **Mofo-branco da soja**. Passo Fundo: Berthier, 2019. 96 p.

# Uso do *Trichoderma* en el cultivo de banano

*Christiana de Fátima Bruce da Silva*

*Ana Iraidy Santa Brígida*

*Carlos Alberto Kenji Taniguchi*

*Gustavo Adolfo Saavedra Pinto*

## Introducción

El banano (*Musa* spp.) es una fruta de importancia socioeconómica a nivel mundial. Según la FAO, Brasil se ha destacado como el cuarto mayor productor de este rubro, con 6,17 millones de toneladas (Banana, 2017). En el país, las regiones Sudeste y Nordeste fueron las principales productoras, totalizando el 65,77% de la producción nacional (Banana, 2019). En estas regiones, la producción de banano se ha concentrado principalmente en los centros de fruticultura bajo riego, en los que tienen un alto nivel tecnológico, así como en condiciones de agricultura de subsistencia.

Durante su sistema de producción, se ha encontrado que las plantas tienen altos requerimientos de nutrientes, especialmente nitrógeno (N) y potasio (K), por lo cual se necesita hacer una adecuada y abundante fertilización para presentar pleno desarrollo y producción. Dependiendo del contenido de K en el suelo, la edad de la planta y el rendimiento esperado, las recomendaciones de fertilización nitrogenada y potásica pueden llegar a 500 kg ha<sup>-1</sup> de N y 750 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O. Además, otro gran problema al cual se enfrenta el cultivo son las enfermedades que afectan a las plantas en el campo, tales como las manchas foliares (sigatoka amarilla y negra), marchitez vascular (enfermedad de Panamá y moko del banano), agallas y lesiones de raíces (por ataque de nematodos) y enfermedades en postcosecha (antracnosis y pudriciones). Para el manejo de estas enfermedades se han utilizado diversas tácticas, como el uso de variedades resistentes, eliminación de la fuente de inóculo, así como el uso de plaguicidas. La adopción de estos productos debe llevarse a cabo de manera racional, ya que

algunos de los plaguicidas son altamente tóxicos para el medio ambiente, además que cada vez más los consumidores exigen una producción de frutas de manera sostenible. Además, la aplicación de estos productos sin la supervisión de un técnico calificado puede conducir a la selección de “cepas” resistentes de los patógenos, así como a la contaminación del suelo, el agua y los humanos.

Para un manejo sustentable en el cultivo del banano, las prácticas culturales, como el uso de fertilizantes solubles y plaguicidas agrícolas, deben realizarse bajo los principios del manejo integrado, adoptando diferentes medidas alternativas a los tratamientos convencionales. Una de las estrategias sería la adopción del control biológico y uso de hongos promotores de crecimiento, como los del género *Trichoderma*. Por lo tanto, a continuación, se describirán las especies de *Trichoderma* utilizadas para la promoción del crecimiento, así como para el control biológico de las principales enfermedades del banano. Además, se reportarán los principales mecanismos de acción de este microorganismo, para promover la bioestimulación de las plantas y el biocontrol de patógenos. También se discutirán los principales productos registrados para su uso en el cultivo de banano.

### **Principales especies de *Trichoderma*, su ocurrencia y mecanismos de acción**

Hay más de 200 especies de *Trichoderma* involucradas tanto en la promoción del crecimiento de las plantas como en el control biológico de patógenos en cultivos agrícolas (Atanasova et al., 2013). Para el banano, vale la pena mencionar algunas especies que han sido utilizadas como bioestimulantes y/o biocontroladoras, tales como: *T. atroviride* (Waele et al., 2006; Xia et al., 2011; Cavero et al., 2015), *T. harzianum* (Moraes et al., 2006; Acosta-Suárez et al., 2013), *T. asperellum* (Xia et al., 2011; Taribuka et al., 2017), *T. gamsii*, *T. koningiopsis* (Taribuka et al., 2017), *T. longibrachiatum* (Mendes et al., 2015), *T. brevicompactum* y *T. virens* (Xia et al., 2011). Entre estas, las más utilizadas y eficientes son *T. harzianum* y *T. asperellum*, ya que tienen alta competencia en la rizosfera (Friedl; Druzhinina, 2012). Estas especies se han encontrado en diferentes ambientes en cultivos de banano, tales como el suelo (Michereff et al., 2005; Vinale et al., 2008; Xia et al., 2011) y asociadas de forma endófitas con la planta (Pocasangre et al., 2000; Zum-Felde et al., 2002; Sikora et al. 2008; Xia et al., 2011). En el caso del suelo, *Trichoderma* prefiere suelos húmedos, sin luz solar directa, con temperaturas frescas (20 a 25 °C) y pH más ácido (Bhale; Rajkonda, 2012; García-Núñez et al., 2012). En condiciones extremas, la eficiencia de estos microorganismos es reducida o incluso puede llegar a ser nula (Halfeld-Vieira et al., 2016).

La intensificación en las unidades de producción parece afectar negativamente la distribución del hongo. Es comúnmente conocido que el sistema de uso de la tierra afecta sus atributos y, en consecuencia, la ocurrencia de *Trichoderma*. Los suelos con altos niveles de

C, N, Mg y Fe, como los bosques favorecen la aparición de estos hongos (Okoth et al., 2009). La presencia de especies de *Trichoderma* también ha sido correlacionada positivamente con el contenido de Ca, Mg y Mn de los suelos bajo diferentes tipos de manejos (Bulluck III et al., 2002). El uso de *T. koningii* para controlar el mal del pie en trigo fue más eficiente en suelos con mayor contenido de Fe o arcilla y menor pH o contenido de P disponible (Duffy et al., 1997). En la rizosfera, *Trichoderma* es atraído por los exudados de las raíces, lo que favorece su persistencia o competencia para colonizar la región cercana a las raíces. Los microorganismos con alta capacidad de colonización son los más adecuados para su uso como antagonistas de patógenos y como promotores del crecimiento de la planta (Vinale et al., 2008; López-Búcio et al., 2015). En el sistema de producción de banano, estos microorganismos también deben tener una buena capacidad de adaptación al agroecosistema donde son inoculados (Lucon, 2014). Otra característica esencial es la compatibilidad de las especies de *Trichoderma* con los insumos utilizados habitualmente en el cultivo de banano, como parte de un programa de manejo integrado de cultivos (Lucon, 2014; Mendes et al., 2015).

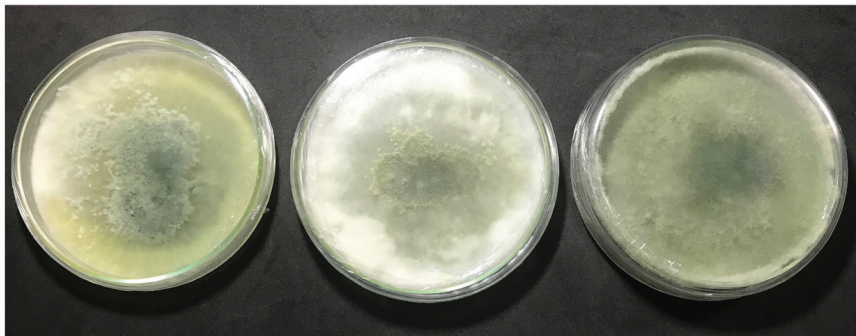
En los nichos ecológicos en los que se adaptan las especies de *Trichoderma*, utilizan diferentes mecanismos importantes para promover el crecimiento y el antagonismo en el cultivo del banano. Los principales mecanismos involucrados en el control biológico son antibiosis, inducción de resistencia, producción de metabolitos (enzimas y compuestos orgánicos volátiles), micoparasitismo y competencia por nutrientes y espacio (Harman et al., 2004; Vinale et al., 2008; Sarandon; Flores, 2014; Lee et al., 2016). En un estudio, el hongo endófito *Trichoderma* fue usado para controlar el nematodo barrenador, *Radopholus similis*. Se observó que a través del micoparasitismo del antagonista se produjo la adhesión de los conidios, la germinación y la colonización del cuerpo del nematodo, inmovilizándolo. El manejo de nematodos fue eficiente (Hernández, 2003). Los aislados de *Trichoderma* también pueden cambiar los sitios de infección y adaptar su metabolismo a estas condiciones. Algunos aislamientos pueden realizar cambios en el pH en los sitios de infección, proporcionando reducciones en la agresividad del patógeno (Benítez et al., 2004).

En cuanto a la promoción del crecimiento, los microorganismos utilizan diferentes mecanismos, entre ellos: producción de hormonas (ácido indolacético, citoquininas, giberelinas, ácido abscisico), aumento en la solubilización de nutrientes (fosfato, hierro, cobre, manganeso y zinc) e incrementos en la eficiencia de uso de nutrientes como el nitrógeno (Harman et al., 2004; Lucon, 2014). La promoción del crecimiento de las plantas por efecto de la aplicación de *T. harzianum* ocurre ya sea de forma directa, por aumento en el desarrollo de la raíz o en combinación con mecanismos indirectos, como la solubilización de minerales a través de procesos de acidificación, reducción, quelación e hidrólisis (Li et al., 2015). El uso de

mezclas de aislados de *Trichoderma*, con diferentes mecanismos de acción, es una estrategia interesante para el manejo de enfermedades y la promoción del crecimiento en plantas de banano. Estas combinaciones pueden favorecer la protección de las plantas, más aún si los microorganismos actúan sinérgicamente (Machado et al., 2012).

Estudios en curso en Embrapa Agroindustria Tropical en Fortaleza, Estado de Ceará, tienen como objetivo seleccionar aislados de *Trichoderma* de la rizosfera de banano para el manejo del Mal de Panamá y la promoción del crecimiento de la planta de banano (Figura 1).

Foto: Christiana de Fátima Bruce da Silva.



**Figura 1.** Aislados de *Trichoderma* sp. de la rizosfera de plantas de banano, con potencial para la promoción del crecimiento y control de enfermedades en cultivos de banano.

En estos estudios, lo interesante es que los aislados seleccionados presentan mecanismos de acción complementarios, lo que posibilita su introducción en la cadena productiva del banano en la región.

### **Promoción del crecimiento en plantas de banano por *Trichoderma***

Las especies de *Trichoderma* son importantes para promover el desarrollo de las plantas, lo que permite aumentar la absorción de nutrientes por parte de las raíces (Harman et al., 2004; López-Búcio et al., 2015; Lee et al., 2016). Estos microorganismos bioestimulantes se encuentran y están mejor adaptados a suelos ácidos, con presencia de nutrientes y materia orgánica (Harman et al., 2010; Sarandón; Flores, 2014). La composición de la materia orgánica parece ser crucial para que el suelo actúe favoreciendo o suprimiendo de la actividad en la rizosfera de la planta. Los factores bióticos también pueden influir en la competencia de los microorganismos del suelo en la rizosfera (Simon; Sivasithamparam, 1989; Kavoo-Mwangi et al., 2013). En la rizosfera, *Trichoderma* puede interactuar con otros microorganismos,

como rizobacterias y hongos micorrízicos arbusculares, lo que permite efectos positivos en el desarrollo de las plantas (Kavoo-Mwangi et al., 2013). Debido a su alta competitividad en la rizosfera, los aislados de *Trichoderma*, son capaces de adherirse, reconocerse y desarrollarse fácilmente en las raíces de las plantas. Estos microorganismos son resistentes a las condiciones adversas del suelo, lo cual le permite sobrevivir a tales condiciones. Por ejemplo, *Trichoderma* es capaz de resistir la competencia con patógenos por los sitios de infección e incluso puede estar expuesto a compuestos tóxicos liberados por las plantas en defensa contra patógenos. Estas características solo prueban los beneficios del uso de estos microorganismos en la agricultura (Benítez et al., 2004; Machado et al., 2012).

Durante su sistema de producción, el banano presenta fases en las que es interesante el efecto de los microorganismos bioestimuladores (Weber et al., 2000; Mia et al., 2005). Una de estas fases es la aclimatación, considerada fundamental en la producción de plántulas (Carvalho et al., 2014). En esta etapa, las plantas tienen una tasa de supervivencia baja, ya que todavía tienen pocas reservas nutricionales y un sistema de raíces frágil. La asociación con microorganismos como *Trichoderma* es interesante y proporciona ganancias en la producción. Esta interacción protege a las plántulas de condiciones estresantes que pueden ocurrir durante la aclimatación (Marín-Guirao et al., 2016). Los estudios han demostrado el papel fundamental de las especies de *Trichoderma* en el desarrollo de los bananos (Kavoo-Mwangi et al., 2013; Taribuka et al., 2017). El uso de *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. koningiopsis* y *T. gamsii* permitió obtener beneficios en plántulas como: altura de planta, diámetro del pseudotallo, número de hojas, masa fresca de la parte aérea, masa fresca y longitud de la raíz (Taribuka et al., 2017). En otro estudio, *T. harzianum* aumentó la solubilidad de nutrientes para las plantas como fosfato, zinc, cobre, hierro y manganeso, además de estimular la secreción de enzimas, que son importantes para promover el crecimiento (Altomare et al., 1999). La presencia de altos niveles de carbono en el suelo se correlacionó con incrementos de hasta 60% en el crecimiento de las plantas cuando fueron inoculadas con *Trichoderma* (Kavoo-Mwangi et al., 2013).

Además de promover el crecimiento, *Trichoderma* también favorece un mejor desarrollo de las plantas sometidas a estrés abiótico (hídrico, salino o térmico). Las plantas en estas condiciones, cuando son inoculadas con *Trichoderma*, pueden tolerar el estrés sin pérdida de productividad (Harman et al., 2004; Lucon, 2014). Estudios en desarrollo en Embrapa Agroindustria Tropical tienen como objetivo seleccionar aislados de *Trichoderma* de la rizosfera de banano para promover el crecimiento de la planta de banano (figura 2).



Fotos: Christiana de Fátima Bruce da Silva.



**Figura 2.** Plántulas de banano, después de 1 mes de aclimatación en sustrato estéril, en condiciones de invernadero en Embrapa Agroindustria Tropical. (A) Plántulas suplementadas con *Trichoderma* sp. (9,2 g/4,5 kg de sustrato estéril); (B) Plántulas suplementadas con fertilizante de liberación lenta (22 g/4,5 kg de sustrato estéril).

## Manejo de enfermedades mediante aplicaciones de *Trichoderma* en el cultivo de banano

El banano es afectado por una gran cantidad de enfermedades que reducen la productividad. Las enfermedades de mayor ocurrencia en las plantaciones de banano son las manchas foliares, marchitez vascular, agallas y las lesiones en las raíces. Otras enfermedades de gran importancia para el cultivo son las que se expresan en postcosecha, como la antracnosis y la pudrición de la corona (Cordeiro et al., 2016). La dificultad en el manejo de enfermedades, especialmente aquellas causadas por patógenos del suelo, ha estimulado la adopción de tácticas de control alternativas. Una de las alternativas sería el uso de hongos biocontroladores presentes en la rizosfera de las plantas, lo cual contribuye con un programa de manejo integrado de enfermedades (Papavizas, 1985; Nel et al., 2006). Estudios recientes indican la importancia del biocontrol de microorganismos en la agricultura, dado su potencial para minimizar el uso de fertilizantes y plaguicidas, disminuir los costos de producción, además de contribuir con la sustentabilidad ambiental (Fernandes, 2009).

Cuando se utilizan antagonistas es fundamental que estos se establezcan en el suelo-planta, más precisamente en la rizosfera. La gran actividad de los microorganismos en el

suelo con altos niveles de materia orgánica ha llevado a la selección de aquellos aislados que muestren mayor eficiencia en la colonización de la rizosfera (Vinale et al., 2008). Además, los antagonistas también contribuyen a aumentar la supresión ejercida por el suelo, reduciendo la intensidad de las enfermedades en los cultivos (Halfeld-Vieira et al., 2016). Entre los antagonistas utilizados para el control de enfermedades destaca *Trichoderma*, el cual se utiliza principalmente en el manejo de enfermedades causadas por patógenos habitantes del suelo en cultivos de banano (Halfeld-Vieira et al., 2016). Los principales mecanismos de *Trichoderma* para el control de patógenos son la antibiosis, la producción de enzimas y la competencia por nutrientes y espacio (Milanesi et al., 2013). En la rizosfera, cuando se establecen, con alta competitividad en la rizosfera se presenta el fenómeno de supresividad en los suelos. Muchas enfermedades, como el ataque de nematodos, pueden suprimirse en presencia de esta microbiota (Zum-Felde et al., 2002).

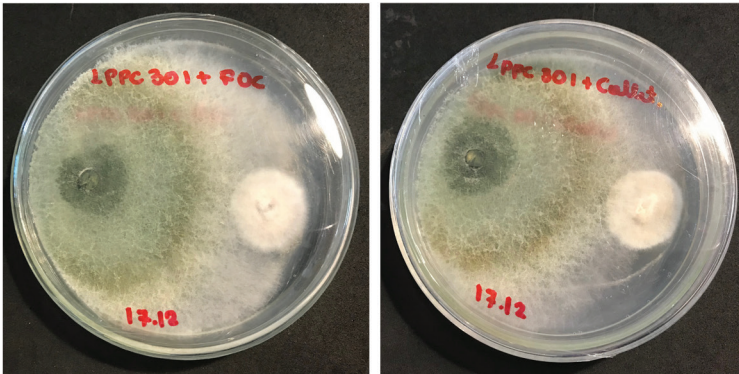
Varios reportes en la literatura destacan el papel preponderante del uso de *Trichoderma* en el manejo de enfermedades en cultivos de banano (Waele et al., 2006; Cavero et al., 2015; Taribuka et al., 2017). Para los patógenos del sistema radicular, los estudios han avanzado considerablemente (Waele et al., 2006; Taribuka et al., 2017). Por ejemplo, plantas de banano tratadas preventivamente con aislamientos de *Trichoderma* mostraron, dos meses después de la inoculación, reducciones en la población del nematodo barrenador de las raíces (Waele et al., 2006). La inoculación de plantas de banano con aislamientos de *T. atroviride* permitió el control del 80% de nematodos (Stolf, 2006). Para el manejo del mal de Panamá, el uso de *Trichoderma* ya es una realidad creciente (Mendes et al., 2015; Taribuka et al., 2017). Las especies de *Trichoderma* obtenidas de raíces de banano fueron evaluadas para medir su capacidad para inducir resistencia a enfermedades. La intensidad de la enfermedad en plantas inoculadas con las especies *T. asperellum* y *T. harzianum* fue de 8,33%. Además, un aislado de *T. harzianum* también proporcionó incrementos en el desarrollo de las plantas de banano. El estado de inducción se verificó por la presencia y/o actividad de compuestos fenólicos, peroxidasa y de lignificación (Taribuka et al., 2017). Otros metabolitos importantes también pueden activarse en respuesta a la colonización por *Trichoderma*, como las fitoalexinas y las proteínas relacionadas con la patogénesis (Vinale et al., 2008). Los resultados confirman el uso potencial de *Trichoderma* en la supresión del Mal de Panamá. La aplicación vía fertirriego de *T. longibrachiatum* en plantaciones de banano, combinada con otras prácticas culturales, como mantenimiento de brotes en las macollas, control de malezas y fertilización adecuada, proporcionó plantas sintomáticas en el 9,8% del área cultivada (Mendes et al., 2015).

Una de las estrategias que aumenta la eficiencia en el control de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* en banano es la aplicación de antagonistas junto con abonos orgánicos, que actúan como sustrato para su multiplicación (Saravanan et al., 2003). El uso de fertilizantes orgánicos

inoculados con diferentes antagonistas, aplicados solos o combinados, fue eficiente en el control de *F. oxysporum* f. sp. *ubense*, posiblemente debido a la acumulación de proteínas relacionadas con la patogénesis (quitinasa y  $\beta$ -1,3-glucanasa), la supresión de la población de patógenos y la regulación de la comunidad microbiana para mejorar las condiciones fungísticas (Zhang et al., 2014).

Algunos estudios también han destacado la importancia de *Trichoderma* para el manejo de enfermedades foliares (Acosta-Suárez et al., 2013; Cavero et al., 2015). *T. harzianum* inhibió el crecimiento micelial de *Mycosphaerella fijiensis*, el agente causal de la sigatoka negra, a través de la competencia por espacio y nutrientes. La producción de enzimas con actividad lítica que actúan sobre las hifas del patógeno son posibilidades no descartables (Acosta-Suárez et al., 2013). Para el manejo de la sigatoka negra se investigó en campo el potencial de 29 aislados de *Trichoderma*. En estos ensayos, *T. atroviride* fue responsable de reducir la severidad de la enfermedad (66%), siendo tan efectivo como el fungicida azoxistrobina (Cavero et al., 2015). Para la antracnosis y la pudrición postcosecha, este antagonista también ha sido adoptado con éxito (Krauss, 1998; Mortuza; Ilag, 1999; Alvindia; Hirooka, 2011). Los frutos de banano tratadas con aislamientos de *T. viride* mostraron reducciones en la severidad de la pudrición de la corona de 29 a 65%. Los frutos presentaron menor incidencia de la enfermedad cuando se aplicó el antagonista de manera preventiva. En las pruebas, también se observó inhibición en el crecimiento micelial y en la germinación de los conidios (77%), especialmente por *T. harzianum*. El antagonista actuó por micoparasitismo directo, pues mediante el análisis microscópico se pudo verificar que ocurrió enrollamiento de las hifas, granulación citoplasmática y desintegración de las paredes de las hifas de *Lasiodiplodia theobromae* (Mortuza; Ilag, 1999). Para la antracnosis (*Colletotrichum musae*), los aislados de *Trichoderma* fueron capaces de reducir el crecimiento micelial del patógeno hasta en un 84%. En el desarrollo de lesiones en los frutos se observaron reducciones superiores a 50% cuando fueron tratados con *Trichoderma* (Oliveira et al., 2016). Estudios en curso en el Laboratorio de Patología Postcosecha de Embrapa Agroindustria Tropical tienen como objetivo seleccionar diferentes aislados de *Trichoderma*, de la rizosfera y carposfera de banano, para el manejo de enfermedades del banano. La actividad antifúngica de estos aislados está siendo evaluada en condiciones *in vitro* (figura 3).

Fotos: Christiana Bruce



**Figura 3.** Inhibición del crecimiento micelial por efecto de *Trichoderma* sp. contra patógenos del banano (*Musa* spp.). (A) Aislado de *Trichoderma* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal del Mal de Panamá (B) Aislado de *Trichoderma* contra *Colletotrichum musae*, agente causal de la antracnosis.

Por lo tanto, para un manejo efectivo de las enfermedades, se recomienda que los aislados de *Trichoderma* sean viables, con competencia en la rizosfera y que presenten diferentes mecanismos de acción. Las aplicaciones deben realizarse de manera preventiva, antes del establecimiento del patógeno. Esta acción promueve una ventaja competitiva del antagonista frente al patógeno. En el caso de las plántulas de banano, *Trichoderma* puede incorporarse al sustrato de siembra o ser aplicado como aspersión, dependiendo del tipo de patógeno a controlar. En el campo, *Trichoderma* se puede aplicar mediante fertirrigación (Lucon, 2014).

### Consideraciones finales

Las especies de *Trichoderma* son importantes agentes bioestimulantes del crecimiento de la planta y de biocontrol de enfermedades en el cultivo del banano, en sus diferentes etapas de producción. Las especies que se destacan con los principios activos más utilizados y eficientes para el banano son *T. harzianum* y *T. asperellum*. La adopción del control biológico por parte de los productores en el cultivo de banano será importante como alternativa en el manejo integrado de enfermedades, lo cual además permitirá obtener frutos sin residuos para el consumidor final.

## Referencias

- ACOSTA-SUÁREZ, M.; PICHARDO, T.; ROQUE, B.; CRUZ-MARTÍN, M.; MENA, E.; LEIVA-MORA, M.; CASTRO, R.; ALVARADO-CAPÓ, Y. Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. **Biociencia Vegetal**, v. 13, n. 4, p. 231-235, 2013.
- ALTMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphate and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied Environmental Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.
- ALVINDIA, D. G.; HIROOKA, Y. Identification of *Clonostachys* and *Trichoderma* spp. from banana fruit surfaces by cultural, morphological and molecular methods. **Mycology**, v. 2, n. 2, p. 109-115, jun. 2011.
- ATANASOVA, L.; LE CROM, S.; GRUBER, S.; COULPIER, F.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. **BMC Genomics**, v. 14, n. 121, p. 1-15, 2013. BANANA. In: AGRIANUAL 2019. São Paulo: Inforna Economics FNP, 2019. p.157.
- Banana. In: FAO. 2017. Disponible en: <<http://www.fao.org/faostat/en/#search/banana>>. Acceso en: nov. 2018.
- BHALE, U. N.; RAJKONDA, J. N. Evaluation of distribution of *Trichoderma* species in soils of Marathwada region of Maharashtra during 2007-2011. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, v. 42, n. 4, p. 505-508, 2012.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BULLUCK III, L. R.; BROSIUS, M.; EVANYLO, G. K.; RISTAINO, J. B. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical Properties on organic and conventional farms. **Applied Soil Ecology**, v. 19, n. 2, p. 147-160, 2002.
- CARVALHO, A. C. P. P.; ARAÚJO, J. D. M.; BERTINI, C. H. C. M.; BEZERRA, A. M. E.; PESSOA, P. F. A. P. **Redução de Custos na Produção de Mudás Micropropagadas de Bananeira cv. Williams**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2014. 7 p. (Circular Técnica, 45).
- CAVERO, P. A. S.; HANADA, R. E.; GASPAROTTO, L.; COELHO NETO, R. A.; SOUZA, J. T. Biological control of banana black Sigatoka disease with *Trichoderma*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 951-957, 2015.
- CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; HADDAD, F. Doenças fúngicas e bacterianas. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (Eds). **O agronegócio da banana**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 547-575.
- DUFFY, B. K.; OWNLEY, B. H.; WELLER, D. M. Soil chemical and physical properties associated with suppression of take-all of wheat by *Trichoderma koningii*. **Phytopathology**, v. 87, n. 11, p. 1118-1124, 1997.
- FERNANDES, T. P. **Bactérias endofíticas no crescimento de mudas de bananeira cultivar Prata Anã**. 2009. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônoma) - Universidade de Montes Claros - Unimontes, Janaúba.
- FRIEDL, M. A.; DRUZHININA, I. S. Taxon-specific metagenomics of *Trichoderma* reveals a narrow community of opportunistic species that regulate each other's development. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 69-83, 2012.
- GARCÍA-NÚÑEZ, H. G.; ROMERO-GÓMEZ, S. J.; GONZÁLEZ-ESQUIVEL, C. E.; NAVA-BERNAL, E. G.; MARTÍNEZ-CAMPOS, A. R. Isolation of native strains of *Trichoderma* spp. from horticultural soils of the Valley of Toluca, for potential biocontrol of *Sclerotinia*. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 15, n. 2, p. 357-365, 2012.
- HALFELD-VIEIRA, B. A.; MARINHO-PRADO, J. S.; NECHET, K. L.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 853 p.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HARMAN, G. E.; OBREGÓN, M. A.; SAMUELS, G. J.; MATTEO, L. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and the developed World. **Plant Disease**, v. 94, n. 8, p. 928- 939, 2010.
- HERNÁNDEZ, A.M. **Utilización de hongos endofíticos provenientes de banano orgánico para el control biológico del nemátodo barrenador *Radopholus similis* Cobb, Thorne**. 2003. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba.
- KAVOO-MWANGI, A. M.; KAHANGI, E. M.; ATEKA, E.; ONGUSO, J.; MUKHONGO, R. W.; MWANGI, E. K.; JEFWA, J. M. Growth effects of microorganisms based commercial products inoculated to tissue cultured banana cultivated in three different soils in Kenya. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 152-162, 2013.

- KRAUSS, U.; BIDWELL, R.; INCE, J. Isolation and preliminary evaluation of mycoparasites as biocontrol agents of crown rot of banana. **Biological Control**, v. 13, n. 2, p. 111-119, 1998.
- LÓPEZ-BÚCIO, J.; RAMÓN, P. F.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 109-123, 2015.
- LEE, S.; YAP, M.; BEHRINGER, G.; HUNG, R.; BENNETT, J. W. Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 7, p. 1-14, 2016.
- LI, R. X.; CAI, F.; PANG, G.; SHEN, Q. R.; LI, R.; CHEN, W. Solubilization of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. 1-16, 2015.
- LUCON, C. M. M. *Trichoderma*: o que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura. São Paulo: Instituto Biológico, 2014. 35 p. MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANYONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MARÍN-GUIRAO, J. I.; RODRIGUEZ-ROMERA, P.; LUPION-RODRIGUEZ, B.; CAMACHO-FERRE, F.; TELLO-MARQUINA, J. C. Effect of *Trichoderma* on horticultural seedlings' growth promotion depending on inoculum and substrate type. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, n. 4, p. 1095-1102, 2016.
- MENDES, H. T. A.; ANJOS, D. N.; SÃO JOSÉ, A. R.; ARCIGA, G. V. Utilização de formas alternativas de desbaste químico no superbrotamento de bananeira. **Revista Agrogeoambiental**, v. 7, n. 3, p. 51-58, 2015.
- MIA, M. A. B.; SHAMSUDDIN, Z. H.; WAHAB, Z.; MARZIAH, M. High-yielding, and quality banana production through plant growth-promoting rhizobacterial inoculation. **Fruits**, v. 60, n. 3, p. 179-185, 2005.
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE: Imprensa Universitária, 2005. 398 p.
- MILANESI, P. M.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; REINIGER, L. R. S.; ANTONIOLLI, Z. I.; JUNGES, E.; LUPATINI, M. Detecção de *Fusarium* spp. e *Trichoderma* spp. e antagonismo de *Trichoderma* sp. em soja sob plantio direto. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3219-3233, 2013.
- MORAES, W. S.; ZAMBOLIM, L.; LIMA, J. D. Incidence of mushrooms in post harvest of banana (*Musa* spp.) 'Prata Anã' (AAB). **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 1, p. 67-70, 2006.
- MORTUZA, M. G.; ILAG, L. L. Potential for Biocontrol of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. in banana fruits by *Trichoderma* species. **Biological Control**, v. 15, n. 3, p. 235-240, 1999.
- NEL, B.; STEINBERG, C.; LABUSCHAGNE, N.; VILJOEN, A. The potential of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and biological control organisms for suppressing fusarium wilt of banana. **Plant Pathology**, v. 55, n. 2, p. 217-223, 2006.
- OKOTH, S. A.; OKOTH, P.; MUYA, E. Influence of soil chemical and physical properties on occurrence of *Trichoderma* spp. in Embu, Kenya. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 11, n. 2, p. 303-312, 2009.
- OLIVEIRA, E. S.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 340-350, 2016.
- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and potential and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, v. 23, p. 23-54, 1985.
- POCASANGRE, L.; SIKORA, R. A.; VILICH, V.; SCHUSTER, R. P. Survey of banana endophytic fungi from Central America and screening for biological control of the burrowing nematode (*Radopholus similis*). **InfoMusa**, v. 9, n. 1, p. 3-5, 2000.
- SARANDÓN, S. J.; FLORES, C. C. **Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables**. Buenos Aires: UNLP, 2014. 467 p.
- SARAVANAN, T.; MUTHUSAMY, M.; MARIMUTHU, T. Development of integrated approach to manage the fusarial wilt of banana. **Crop Protection**, v. 22, n. 9, p. 1117-1123, 2003.
- SIKORA, R. A.; POCASANGRE, L.; FELDE, A. Z.; NIERE, B.; VU, T. T.; DABABAT, A. A. Mutualistic endophytic fungi and in-plant suppressiveness to plant parasitic nematodes. **Biological Control**, v. 46, n. 1, p. 15-23, 2008.

- SIMON, A.; SIVASITHAMPARAM, K. Pathogen suppression: a case study in biological suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *triticici* in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 21, n. 3, p. 331-337, 1989.
- STOLÉ, E. C. Efeito de re-inoculações de fungos endofíticos sobre o controle do nematoide cavernícola da bananeira (*Radopholus similis*). 2006. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônoma) - Centro Agronômico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba.
- TARIBUKA, J.; WIBOWO, A.; WIDYASTUTI, S. M.; SUMARDIYON, C. Potency of six isolates of biocontrol agents endophytic *Trichoderma* against fusarium wilt on banana. **Journal of Degraded of Mining Lands Management**, v. 4, n. 2, p. 723-731, 2017.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.
- XIA, X.; LIE, T. K.; QIAN, X.; ZHENG, Z.; HUANG, Y.; SHEN, Y. Species diversity, distribution, and genetic structure of endophytic and epiphytic *Trichoderma* associated with banana roots. **Microbial Ecology**, v. 61, n. 3, p. 619-625, 2011.
- WAELE, D. D.; STOFFELEN, R.; KESTEMONT, J. Effect of associated plant species on banana nematodes. **InfoMusa**, v. 15, n. 1-2, 2006. WEBER, O. B.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Bactérias diazotróficas em mudas de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n. 11, p. 2277-2285, 2000.
- ZHANG, N.; HE, X.; ZHANG, J.; RAZA, W.; YANG, X. M.; RUAN, Y. Z.; SHEN, Q. R.; HUANG, Q. W. Suppression of fusarium wilt of banana with application of bio-organic fertilizers. **Pedosphere**, v. 24, n. 5, p. 613-624, 2014.
- ZUM-FELDE, A.; POCASANGRE, I.; SIKORA, R. A. The potential use of microbial communities inside suppressive banana plants for banana root protection. In: TURNER, D. W.; ROSALES, F. E. (Eds). Proceedings of an International Symposium held in San José, 2005, San José. **Banana root system: Towards a better understanding for its productive management**. [Montpellier: INIBAP; Turrialba: MUSALAC; San José: Corbana, 2005]. p. 169-177.



# Uso de *Trichoderma* en el cultivo del cacao

*Jorge Teodoro de Souza*

*Edna Dora Martins Newman Luz*

*Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros*

*Júlio Carlos Pereira da Silva*

## Introducción

Brasil es el quinto mayor productor de cacao del mundo, con los estados de Bahía y Pará liderando la producción nacional. El cultivo del cacao en Brasil se realiza bajo sombra de especies arbóreas nativas en un sistema conocido como “*cabruca*”. Este sistema ecológico ayuda a proteger los remanentes del Bosque Atlántico, uno de los biomas más diversos y amenazados del mundo (Muller; Gama-Rodrigues, 2007).

Las enfermedades del cacao son la causa más importante de pérdidas de productividad en el cacao. Alrededor del 40% de la producción mundial de cacao se pierde anualmente por cinco enfermedades: moniliasis causada por *Moniliophthora roreri*, escoba de bruja, causada por *Moniliophthora perniciosa*, pudrición parda, causada por *Phytophthora* spp.; muerte descendente causada por *Ceratobasidium theobromae*; y la hinchazón de la fruta causada por el virus del brote hinchado del cacao (CSSV) (Guyton et al., 2003; Ten Hoopen; Krauss, 2016). En Brasil, las principales enfermedades del cacao son la escoba de bruja, la pudrición parda y la marchitez por *Ceratocystis* (*Ceratocystis cacaofunesta*) (Oliveira; Luz, 2005; Engelbrecht; Harrington, 2005).

En este capítulo, abordaremos el control biológico de las enfermedades del cacao mediante el uso de especies de *Trichoderma*, con un enfoque principal en la escoba de bruja, que es la enfermedad más importante en Brasil y para la cual hay un producto registrado y en uso en el país.



## Control biológico de la escoba de bruja

La escoba de bruja, causada por el basidiomiceto *M. perniciosa*, es la principal enfermedad del cultivo del cacao en Brasil (Pereira et al., 1990). Desde su introducción en Bahía en 1989, el hongo ha reducido aproximadamente el 75% de la producción de cacao en el Estado de Bahía (Anderbrhan et al., 1999; Oliveira; Luz, 2005). El patógeno infecta todos los tejidos meristemáticos de la planta. Los tejidos meristemáticos infectados muestran hiperplasia e hipertrofia, que son causadas por el desequilibrio hormonal inducido por el patógeno. El síntoma típico en los brotes infectados es la formación de ramas cortas, agrupadas en forma de escoba. Los frutos infectados pueden tener lesiones necróticas en su superficie y las semillas pueden estar afectadas y no ser aptas para la industria del chocolate (Silva et al., 2002; Souza et al., 2018). Los únicos propágulos infecciosos del hongo son las basidiosporas, y éstas se producen en los basidiocarpos formados en la superficie de los tejidos infectados.

Existen varias publicaciones disponibles sobre el uso potencial de agentes de control biológico contra la escoba de bruja en América Latina, la mayoría de las cuales se basan en *Trichoderma* spp. (Ten Hoopen; Krauss, 2016; Souza et al., 2018).

Las especies de *Trichoderma* ya citadas como agentes potenciales para el control biológico de las enfermedades del cacao incluyen *T. asperellum*, *T. martiale*, *T. ovalisporum*, *T. paucisporum*, *T. theobromicola* y *T. stromaticum* (Sanogo et al., 2002; Holmes et al., 2004; Samuels et al., 2006; Tondje et al., 2007; Hanada et al., 2008). Existe una gran diversidad de especies de *Trichoderma* asociadas al cacao en Brasil. Almeida et al. (2018) encontraron 21 especies, siendo 16 conocidas y 5 nuevas especies. Sin embargo, el potencial de estas especies para el control biológico de enfermedades del cacao aún está poco explorado.

Entre todas las especies identificadas en cacao, existen especies con potencial para controlar la pudrición parda y el mal del machete (descritas en este capítulo), para el control de la escoba de bruja, la más eficiente ha sido *T. stromaticum* (Souza et al., 2006). Este hongo es un parásito de *M. perniciosa* y también puede colonizar endófitamente las plantas de cacao. Las ramas y frutos afectados por el patógeno son colonizados por *T. stromaticum*, el cual parasita a *M. perniciosa*, lo que provoca una reducción en la producción de basidiocarpos. La colonización de tejidos infectados también acelera su descomposición (Souza et al., 2008). En Brasil, el control biológico de la escoba de bruja se basa en la aplicación del producto comercial Tricovab, que contiene conidios de *T. stromaticum* como principio activo.

El control de estas enfermedades no es una tarea fácil, lo que requiere que los productores adopten conjuntamente medidas de control cultural, químicas y biológicas. En este capítulo, se discutirán los aspectos prácticos y teóricos del control biológico de las enfermedades del cacao. Se dará mayor atención al control de la escoba de bruja, por ser esta la enfermedad más importante en Brasil y también por el mayor número de estudios.

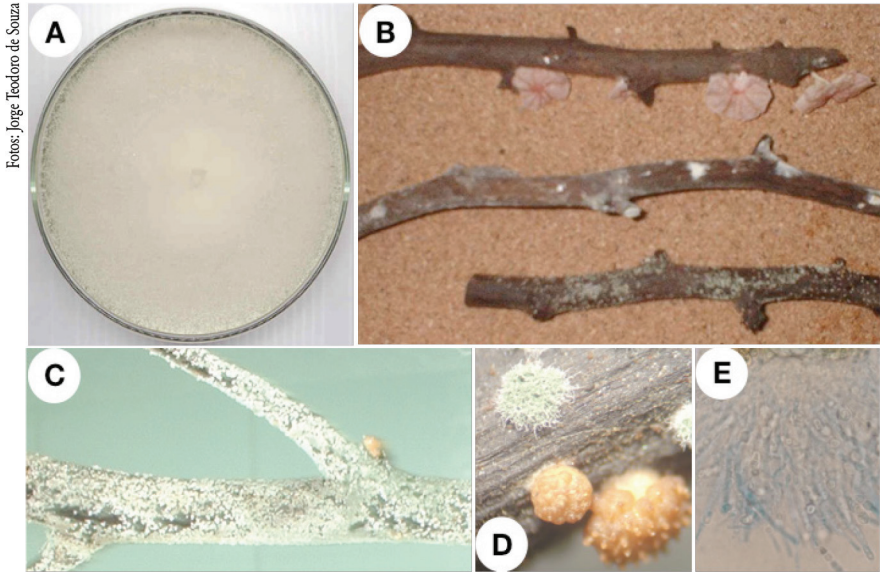
### Origen y biología de *Trichoderma stromaticum*

El hongo *T. stromaticum* fue aislado por primera vez de una escoba de bruja en cacao en la región amazónica de Brasil e identificado como *Trichoderma viride* (Bastos, 1986), luego rebautizado como *T. polysporum* (Costa et al., 1996) y finalmente *T. stromaticum* (Samuels et al., 2000). El hongo parece ser el agente de biocontrol más prometedor contra *M. pernicioso* (Souza et al., 2018). En la naturaleza, el hongo se encuentra normalmente asociado a tejidos infectados, comportándose como un micoparásito del patógeno (Figuras 1B, C).

Un estudio sobre la diversidad genética de *T. stromaticum* mostró que existen dos grupos relacionados entre todos los aislamientos que se encuentran en el cacao. El Grupo I (GI) se encontró en Colombia y el Estado de Bahía, mientras que el Grupo II (GII) está presente en la Amazonía brasileña, incluidos los Estados de Pará y Rondônia, además en Ecuador y Perú (Souza et al., 2006). Sin embargo, uno de los aislamientos del GII fue introducido por la CEPLAC en el Estado de Bahía para el control de la escoba de bruja (Costa et al., 1996). Por lo tanto, el Estado de Bahía es el único lugar conocido donde están presentes ambos grupos genéticos. Estudios posteriores mostraron que los aislados del GII se encuentran como endófitos en cacao y otras especies relacionadas, como copoazú o cacao blanco y *Herrania* spp. Curiosamente, no se encontró a ningún representante del GI como endófito, aunque las búsquedas no fueron exhaustivas.

Tanto las escobas ya muertas como los frutos viejos infectados pueden ser colonizados por *T. stromaticum*, el cual es capaz de parasitar el micelio de *M. pernicioso*. Así, el agente de biocontrol reduce la producción de basidiocarpos (Figura 1B), reduce la fuente de inóculo y, en consecuencia, reduce la enfermedad (Hjorth et al., 2003). A pesar de ser saprofito, aparentemente este hongo tiene una baja capacidad competitiva en el suelo, pero es competitivo en la colonización de ramas afectadas por *M. pernicioso*, las denominadas escobas secas, colonizando y produciendo conidios en la superficie de los tejidos (ramas, frutos y hojas) que contienen micelio de *M. pernicioso* (Sanogo et al., 2002) y también pueden cultivarse en medios de cultivo (Figura 1A). Estudios sobre el efecto de las condiciones climáticas sobre *T. stromaticum* indican que este hongo necesita aproximadamente 23 °C y una humedad relativa superior a 90% para lograr una colonización efectiva de las escobas a nivel de campo (Loguercio et al., 2009). Los conidios se producen en la superficie del estroma y este hongo tiene la capacidad de reproducirse sexualmente, por lo que puede observarse la formación de peritecios amarillos en la superficie del tejido colonizado (Figura 1D, E).

El micoparasitismo es el principal modo de acción de *T. stromaticum* (Bastos, 1986). Otros modos de acción, como la inducción de resistencia y producción de antibióticos, comunes entre las especies de *Trichoderma*, no parecen estar relacionados con la actividad de biocontrol ejercida por *T. stromaticum* (Souza et al., 2008), a pesar de haberse reportado la producción de peptabióticos por *T. stromaticum* (Krause et al., 2006).



**Figura 1.** Aspectos morfológicos de *Trichoderma stromaticum*. (A) Crecimiento de *T. stromaticum* en una placa de Petri que contiene medio agar papa dextrosa; (B) Colonización de escobas secas y supresión de la producción de basidiocarpos por *T. stromaticum*; (C) Detalle de la colonización en una escoba de bruja; (D) Reproducción asexual (conidios verdes) y sexual (peritecios amarillos) de *T. stromaticum* en la superficie de una escoba colonizada; (E) Ascosporas y ascas de *T. stromaticum* producidas dentro de los peritecios.

El hongo únicamente es encontrado en América Latina y en asociación con el cacao, lo que sugiere que el cacao coevolucionó con el patógeno *M. pernicioso* y el agente de control *T. stromaticum*. Se cree que *T. stromaticum* se presenta en cultivos en otros países de Latinoamérica y, por lo tanto, podría ser estudiado para el control de la escoba de bruja en las diferentes localidades donde se presenta la enfermedad.

### **Aplicación de *Trichoderma stromaticum* en el campo**

Las aplicaciones de esporas de *T. stromaticum* sobre escobas de bruja y frutos infectados con *M. pernicioso* en el suelo de plantaciones de cacao han demostrado eficacia en la reducción de la formación de basidiocarpos hasta en un 99% cuando las escobas están en la superficie del suelo y en un 89% cuando están en las copas de las plantas de cacao (Costa et al., 1996; Hjorth et al., 2003). Además, los resultados de una prueba de campo durante 2 años mostraron que Tricovab aumentó el rendimiento del cacao en un 30% con su uso como única medida de control de enfermedades (Pomella et al., 2007).

Sin embargo, como se mencionó, el mecanismo de control de *T. stromaticum* sobre *M. perniciosa* es el micoparasitismo y, por lo tanto, las plantas tratadas no están protegidas contra nuevas infecciones. En este sentido, en un ensayo de campo realizado durante 3 años, se propuso un programa de aplicación en el que la alternancia de tratamientos con cobre (para proteger los tejidos sanos) y *T. stromaticum* (para reducir el inóculo inicial) reducía la formación de ramas con síntomas y producía mayor número de frutos por árbol (Medeiros et al., 2010). El tratamiento con fungicida cúprico también redujo la incidencia de la enfermedad en las frutas en relación con otros métodos hasta en un 60%. El rendimiento estimado de almendras también fue mayor en el tratamiento combinado, lo que resultó en un aumento de la rentabilidad del productor desde el primer año de instalación del ensayo.

En plantaciones de cacao abandonadas o no manejadas adecuadamente, la adopción de estrategias de manejo de enfermedades junto con la aplicación adecuada de fertilizantes parece ser la forma de asegurar un rendimiento económicamente viable (Krauss; Soberanis, 2002; Medeiros et al., 2010).

En Perú, estudios demostraron que *T. stromaticum* redujo el número de frutos infectados con *M. perniciosa* en un 48% (Krauss; Soberanis, 2002). Sin embargo, su eficacia fue más pronunciada en las zonas con menor incidencia de la enfermedad. Desafortunadamente, el hongo no mostró efecto sobre el control de la pudrición negra y la moniliasis del fruto causados por *Phytophthora* spp. y *M. roleri*, respectivamente. Esto confirma la especificidad del micoparásito por *M. perniciosa* en el control de la escoba de bruja. En Ecuador, donde *T. stromaticum* es nativo, el hongo se ha producido a gran escala y se está evaluando en condiciones de campo para controlar la enfermedad (C. Suarez, comunicación personal).

En Brasil, la CEPLAC recomienda aplicar Tricovab cuatro veces, a intervalos mensuales, de mayo a agosto, para el manejo de la enfermedad causada por *M. perniciosa*. Esto se corresponde con la temporada de lluvias de las principales regiones productoras. La concentración efectiva recomendada es de  $1 \times 10^{11}$  conidios/ha asperjados en 300 L de agua. La eficacia incrementa cuando se toman precauciones para garantizar que el hongo pueda colonizar activamente las escobas muertas. Se debe considerar que el agente de biocontrol es sensible a la radiación UV y condiciones de sequía. En aplicaciones durante la estación seca, se puede agregar aceite vegetal emulsionable agrícola a la solución de aplicación. Tricovab se puede rociar con un aspersor de mochila, pero las escobas de los árboles se pueden alcanzar de manera más eficiente con un aspersor de motor. Tricovab se debe asperjado sobre escobas de ramas enfermas y frutos de los árboles para reducir la formación de basidiocarpos y no es necesario hacer podas a priori. Esta práctica se denominó *biological pruning* o poda biológica, ya que reduce los costos de mano de obra usada para la remoción y quema de las escobas como se hacía en el pasado. Además, el mantenimiento del tejido micoparasitado garantiza un aumento de la presión de inóculo de *T.*

*stromaticum* en la zona, lo que aumenta la acción residual del producto (Pomella et al., 2007; Medeiros et al., 2010).

### Control biológico de la pudrición parda

En Brasil, se evaluaron 103 hongos endófitos obtenidos a partir de árboles de cacao y copoazú (*T. grandiflorum*) en los estados de Amazonas y Bahía para el control de la pudrición parda causada por *Phytophthora* spp. Después de varios ensayos, se demostró que el aislado más eficiente pertenecía a una nueva especie descrita como *T. martiale* (Hanada et al., 2008). Esta especie redujo la severidad de la pudrición parda y también fue capaz de colonizar el tronco de los árboles de cacao durante 80 días (Hanada et al., 2008; 2009). Estudios posteriores también demostraron que se podían aplicar fungicidas a base de hidróxido de cobre o fosetil-Al junto con el aislado de *T. martiale*, siempre y cuando la solución fuera preparada en el momento de la aplicación (Hanada et al., 2009). En Camerún, un aislamiento del suelo de *T. asperellum* mostró potencial para el control de la pudrición parda causada por *P. megakarya*, un patógeno más virulento que las especies de *Phytophthora* que se encuentran en Brasil (Tondje et al., 2007).

### Control biológico de la moniliasis del cacao

Otra enfermedad importante es la moniliasis del cacao. La enfermedad es causada por *M. rozeri*, la cual aún no está presente en Brasil, sin embargo, representa una de las plagas con alto riesgo de ser introducida en las áreas de producción de la región amazónica, considerando que la enfermedad se presenta en varios países limítrofes con la Amazonía brasileña. En Perú, las especies *T. theobromicola* y *T. paucisporum* han sido descritas como micoparásitas de *M. rozeri* y endófitas en cacao (Samuels et al., 2006). Sin embargo, se han realizado pocos estudios para el desarrollo de productos formulados a partir de estas especies y el manejo de la enfermedad se basa exclusivamente en prácticas culturales y el uso de fungicidas.

### Control biológico del mal del machete

Enfermedades de menor importancia económica como el mal del machete, causada por *C. cacaofunesta*, han sido poco estudiadas en términos de control por especies de *Trichoderma*. En un estudio preliminar, diferentes aislados de *Trichoderma* pudieron inhibir la germinación de esporas y el crecimiento micelial de *C. cacaofunesta*, pero no se observó un control significativo cuando se probaron en plántulas de cacao (Rodrigues et al., 2018).

Uno de los desafíos en el control de la enfermedad del machete es que el patógeno coloniza el interior de los tejidos de la planta (Santos et al., 2013), donde *Trichoderma* aparentemente no tiene la misma velocidad de colonización que el tejido enfermo. Así, la alternativa sería

el tratamiento preventivo con aislados de *Trichoderma*, que tienen la capacidad de inducir resistencia en las plantas, representando una estrategia importante en el control de la enfermedad, y debería estar asociado al control genético (Sanchez et al., 2008), control químico y otras prácticas culturales (Ram et al., 2004).

### Consideraciones finales

Los hongos del género *Trichoderma* se encuentran generalmente en la madera en descomposición y en el suelo. Entre los agentes de control biológico, este género es el más utilizado en la actualidad, controlando un amplio espectro de enfermedades de plantas, pero en el cultivo del cacao, la adopción se ha restringido al control de la escoba de bruja.

*T. stromaticum* es la especie con mayor potencial para el control de la escoba de bruja, tanto por su especificidad frente al patógeno, como por su capacidad de colonización endofítica. Adicionalmente, existe la disponibilidad del biofungicida Tricovab.

Tricovab, un biofungicida desarrollado por la CEPLAC, está actualmente registrado en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento. Debido a la importancia económica de la enfermedad, la producción del biofungicida aún no puede satisfacer la demanda del productor rural. De esta forma, sería deseable que la iniciativa privada o cooperativas de productores despertara interés por este tema. Además de la necesidad de inversión en investigación para el manejo de otras enfermedades que se presentan en el cultivo del cacao, como las mencionadas anteriormente.

### Referencias

- ALMEIDA, K. A.; ARMESTO, C.; MONTEIRO, F. P.; DE SOUZA, J. T. Diversity of *Trichoderma* species isolated from dead branches and sapwood of *Theobroma cacao* trees. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, p. 90-94, 2018.
- ANDEBRHAN, T.; FIGUEIRA, A.; YAMADA, M. M.; CASCARDO, J.; FURTEK, D. B. Molecular fingerprinting suggests two primary outbreaks of witches' broom disease (*Crimpellis pernicioso*) of *Theobroma cacao* in Bahia, Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 105, p. 167-175, 1999.
- BASTOS, C. N. Mycoparasitic nature of the antagonism between *Trichoderma viride* and *Crimpellis pernicioso*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p. 50-54, 1986.
- COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L.; CAZORLA, I. M. Controle biológico da vassoura-de-bruxa do cacaueiro na Bahia com *Trichoderma polysporum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, p. 397, 1996.
- ENGELBRECHT, C. J. B.; HARRINGTON, T. C. Interesterility, morphology and taxonomy of *Ceratocystis fimbriata* on sweet potato, cacao and sycamore. **Mycologia**, v. 97, p. 57-69, 2005.
- GUYTON, B.; LUMSDEN, R. D.; MATLICK, B. K. Strategic plan for sustainable cocoa production. **The Manufacturing Confectioner**, v. 83, p. 55-60, 2003.
- HANADA, R. E.; DE SOUZA, J. T.; POMELLA, A. W. V.; HEBBAR, P. K.; PEREIRA, J. O.; ISMAIEL, A.; SAMUELS, G. J. *Trichoderma martiale* sp. nov., a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control. **Mycological Research**, v. 112, p. 1335-1343, 2008.
- HANADA, R. E.; POMELLA, A. W. V.; SOBERANIS, W.; LOGUERCI, L. L.; PEREIRA, J. O. Biocontrol potential of *Trichoderma martiale* against the black-pod disease (*Phytophthora palmivora*) of cacao. **Biological Control**, v. 50, p. 143-149, 2009.



HOLMES, K. A.; SCHROERS, H. J.; THOMAS, S. E.; EVANS, H. C.; SAMUELS, G. J.

Taxonomy and biocontrol potential of a new species of *Trichoderma* from the Amazon basin of South America. **Mycological Progress**, v. 3, p. 199-210, 2004.

HJORTH, S.; POMELLA, A. W. V.; HOCKENHULL, J. R.; HEBBAR, P. K. Biological control of witches' broom disease, (*Crinipellis perniciosa*), with the co-evolved fungus, *Trichoderma stromaticum*: testing different delivery regimes. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 14., 2003, [Lagos. **Proceedings...** Accra: COPAL, 2003. v. 2.] p. 691-697.

KRAUSE, C.; KIRSCHBAUM, J.; BRÜCKNER, H. Peptaibiotics: an advanced, rapid and selective analysis of peptaibiotics-peptaibols by SPELAC-ES-MS. **Amino Acids**, v. 30, p. 435, 2006.

KRAUSS, U.; SOBERANIS, W. Effect of fertilization and biocontrol application frequency on cocoa pod diseases. **Biological Control**, v. 24, p. 82-89, 2002.

LOGUERCIQ, L. L.; SANTOS, L. S.; NIELLA, G. R.; MIRANDA, R. A. C.; SOUZA, J. T.; COLLINS, R. T.; POMELLA, A. W. V. Canopy-microclimate effects on the antagonism between *Trichoderma stromaticum* and *Moniliophthora perniciosa* in shaded cacao. **Plant Pathology**, v. 58, p. 1104-1115, 2009.

MEDEIROS, F. H. V.; POMELLA, A. W. V.; DE SOUZA, J. T.; NIELLA, G. R.; VALLE, R.; BATEMAN, R. P.; FRAVEL, D.; VINYARD, B.; HEBBAR, P. K. A novel, integrated method for management of witches' broom disease in Cacao in Bahia, Brazil. **Crop Protection**, v. 29, p. 704-711, 2010.

MULLER, M. W.; GAMA-RODRIGUES, A. C. Sistemas agroflorestais com o cacauero. In: VALLE, R. R. (Ed.). **Ciência, tecnologia e manejo do cacauero**. Itabuna: Vital, 2007. v. 1, p. 246-271.

OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E. D. M. N. **Identificação e manejo das principais doenças do cacauero no Brasil**. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC/SEFTI, 2005. 132 p.

PEREIRA, J. L.; RAM, A.; FIGUEIREDO, J. M.; ALMEIDA, L. C. C. The first occurrence of witches' broom disease in the principal cocoa growing region of Brazil. **Tropical Agriculture**, v. 67, p. 188-189, 1990.

POMELLA, A. W.; SOUZA, J. T.; NIELLA, G. R.; BATEMAN, R. P.; HEBBER, P. K.; LOGUERCIQ, L. L.; LUMSDEN, R. D. *Trichoderma stromaticum* for management of witches' broom of cacao in Brazil. In: VINCENTI, C.; GOETTEL, M. S.; LAZAROVITS, G. (Eds.). **Biological Control: A Global Perspective: Case Studies from Around the World**. [S. l.]: CAB, 2007. p. 210-217.

RAM, A.; VALLE, R. R.; DE FREITAS, D. B. Controle de cancro ou murcha de *Ceratocystis* do cacauero na Bahia, Brasil. Centro de Pesquisas do Cacau, Ilhéus, BA (Brasil). **Agrotropica**, v. 16, p. 111-114, 2004.

RODRIGUES, G. S.; MAGALHÃES, D. M. A.; COSTA, A. M.; LUZ, E. D. M. N. Antagonismo de *Trichoderma* spp. ao agente etiológico da Murcha de *Ceratocystis* em cacauero. **Summa Phytopathologica**, v. 44, p. 72-78, 2018.

SAMUELS, G. J.; PARDO-SCHULTHEISS, R.; HEBBAR, K. P.; LUMSDEN, R. D.; BASTOS, C. N.; COSTA, J. C.; BEZERRA, J. L. *Trichoderma stromaticum* sp. nov. a parasite of the cacao witches' broom pathogen. **Mycological Research**, v. 104, p. 760-764, 2000.

SAMUELS, G. J.; SUAREZ, C.; SOLIS, K.; HOLMES, K.; THOMAS, S. E.; ISMAIEL, A.; EVANS, H. *Trichoderma theobromicola* and *T. paucisporum*: two new species isolated from cacao in South America. **Mycological Research**, v. 110, p. 381-392, 2006.

SANCHES, C. L. G.; PINTO, L. R. M.; POMELLA, A. W. V.; SILVA, S. D. V. M.; LOGUERCIQ, L. L. Assessment of resistance to *Ceratocystis cacaoifunesta* in cacao genotypes. **European Journal of Plant Pathology**, v. 122, p. 517-528, 2008.

SANOQO, S.; POMELLA, A. W. V.; HEBBAR, P. K.; BAILEY, B.; COSTA, J. C. B.; SAMUELS, G. J.; LUMSDEN, R. D. Production and germination of conidia of *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of *Crinipellis perniciosa* on cacao. **Phytopathology**, v. 92, p. 1032-1037, 2002.

SANTOS, R. M. F.; SILVA, S. D. V. M.; SENA, K.; MICHELI, F.; GRAMACHO, K. P. Kinetics and histopathology of the Cacao- *Ceratocystis cacaoifunesta* interaction. **Tropical Plant Biology**, v. 6, p. 37-45, 2013.

SILVA, S. D. V. M.; LUZ, E. D. M. N.; ALMEIDA, O. C.; GRAMACHO, K. P.; BEZERRA, J. L. Redescricao da sintomatologia causada por *Crinipellis perniciosa* em cacauero. **Agrotropica**, v. 14, p. 1-28, 2002.

SOUZA, J. T.; POMELLA, A. W. V.; BOWERS, J. H.; PIROVANI, C. P.; LOGUERCIQ, L. L.; HEBBAR, P. K. Genetic and biological diversity of *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the cacao witches' broom pathogen. **Phytopathology**, v. 96, p. 61-67, 2006.

SOUZA, J. T.; BAILEY, B. A.; POMELLA, A. W. V.; ERBE, E. F.; MURPHY, C. A.; BAE, H.; HEBBAR, P. K. Colonization of cacao seedlings by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the witches' broom pathogen, and its influence on plant growth and resistance. **Biological Control**, v. 46, p. 36-45, 2008.

SOUZA, J. T.; MONTEIRO, F. P.; FERREIRA, M. A.; GRAMACHO, K. P.; LUZ, E. D. M. N. Cocoa diseases: witches' broom. In: UMAHARAN, P. (Ed.). **Achieving sustainable cultivation of cocoa**. [Port of Spain]: Burleigh Dodds Publishing, 2018. p. 239-269.

TONDJE, P. R.; ROBERTS, D. P.; BON, M. C.; WIDMER, T.; SAMUELS, G. J.; NYEMB-TSCHOMBE, E.; NDOUMBE-NKENG, M.; BATEMAN, R. P.; FONTEM, D.; HEBBAR, K. P. Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for suppression of black pod disease of cacao in Cameroon. **Biological Control**, v. 43, p. 202-212, 2007.

TEN HOOPEN G. M.; KRAUSS U. Biological control of cacao diseases. In: BAILEY, B.; MEINHARDT, L. (Eds.). **Cacao Diseases**. Basel: Springer Nature, 2016. p. 511-566.





# Uso de *Trichoderma* en hortalizas

*Paula Steilmann Suélen Mazon*

*Thiago de Oliveira Vargas*

## Introducción

La olericultura en Brasil hoy es una actividad de gran importancia social, económica, industrial y alimentaria. En general, la producción de hortalizas se concentra en la agricultura familiar, sin embargo, el sector viene creciendo y expandiendo la producción en todos los estados brasileños.

La producción de hortalizas enfrenta varios desafíos, como la alta demanda de hortalizas frescas, lo cual requiere mucha mano de obra, la dependencia de condiciones de almacenamiento controladas y la amplia variedad de productos que el sector minorista necesita ofrecer todos los días. Dado que la mayoría de estos productos son altamente perecederos, la mejor calidad puede estar relacionada con el momento de la cosecha y las condiciones de cultivo. Así, el manejo utilizado para el control de plagas y enfermedades es fundamental para obtener productos de calidad.

Además de los desafíos ya mencionados, inherentes a la mano de obra y la comercialización, la producción de cultivos hortícolas está sujeta al ataque de hongos, bacterias, virus y nematodos, que pueden reducir significativamente el rendimiento y la calidad de estos productos. Actualmente, el control de estas enfermedades se realiza básicamente mediante el uso de productos químicos, sin embargo, en el escenario actual, la demanda de alimentos libres de agroquímicos va en aumento, lo que en cierto modo se acentúa aún más para el sector hortofrutícola, ya que son consumidos como productos frescos. En este contexto, el auge del mercado por la obtención de productos naturales y orgánicos sigue una tendencia mundial de demanda creciente de productos libres de químicos persistentes en el medio ambiente, de manera de evitar las graves consecuencias para la salud humana y los ecosistemas naturales (Dias et al., 2015).

Como consecuencia de la alta demanda de productos orgánicos, el uso de productos biológicos para el control de patógenos está aumentando en el escenario actual, lo que ha impulsado la investigación sobre microorganismos que actúen como agentes de control biológico. Las especies de *Trichoderma* son las más estudiadas y utilizadas para el manejo de fitopatógenos, esto se da por muchas razones, entre ellas es importante mencionar la facilidad con que estos hongos se encuentran y aíslan del ambiente y, además, por la facilidad de cultivo *in vitro*, ya que presentan un crecimiento rápido sobre una gran cantidad de sustratos, lo que facilita los estudios y la producción a gran escala (Papavizas et al., 1982). También cabe mencionar la amplia variedad de mecanismos de acción, característica que lo hace tan eficiente en el control de una gran diversidad de microorganismos fitopatógenos. Las especies de *Trichoderma* spp. son capaces de controlar fitopatógenos a través de competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo, antibiosis, inducción de la resistencia a patógenos en plantas, promoción del crecimiento vegetal y el micoparasitismo de estructuras de resistencia, que en general son difíciles de destruir (Melo, 1998; Machado et al., 2012).

Diversos productos a base de *Trichoderma* spp. se comercializan en Brasil, los cuales son clasificados como fungicidas microbiológicos y que han sido ampliamente utilizados en el cultivo de hortalizas en sistemas orgánicos y convencionales, principalmente para el manejo de patógenos habitantes del suelo. Por lo tanto, este capítulo abordará el uso de *Trichoderma* spp. en el cultivo de hortalizas de fruto, hortalizas de hoja y tubérculos en Brasil y en el mundo.

### Hortalizas de fruto

*Trichoderma* spp. ya han sido estudiadas como agentes de control biológico utilizados en el manejo de enfermedades en numerosos cultivos. Los productos comerciales desarrollados a partir de *Trichoderma* spp. se utilizan en cultivo convencional en combinación con el uso de productos químicos o como alternativa para el control de enfermedades en el sistema de producción orgánico (Figura 1).



Fotos: Acervo CAPA

**Figura 1.** Cultivo de tomate orgánico comercial en sistema protegido, plantas con aplicación de producto formulado a base de *Trichoderma harzianum* en la ciudad de Veré - PR.

Varias enfermedades son responsables de la disminución de la producción de hortalizas de fruto, ya sean de origen bacteriano, fúngico, viral o incluso las causadas por nematodos. Sin embargo, un grupo importante de patógenos en estos cultivos son los patógenos del suelo como *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp. entre otros, que provocan graves pérdidas de la producción en varios cultivos. A pesar de la gran diversidad, estos patógenos comparten algunas características básicas, entre ellas la forma de infección, la cual se presenta a través de órganos subterráneos, pero también puede llegar a las partes aéreas de la planta (Katan, 2017).

Entre las enfermedades causadas por patógenos habitantes del suelo, la pudrición blanca causada por el hongo *Sclerotinia sclerotiorum* es una de las enfermedades de plantas más importantes en cultivos de hortalizas (Reis et al., 2018). En tomate, es una de las enfermedades más destructivas cuando se cultiva bajo pivote central (Lopes; Ávila, 2005). En un estudio realizado en el estado de Goiás, probando la aplicación de tres aislados de *Trichoderma* spp. (dos aislados de *T. harzianum* y uno de *T. viride*) y fungicidas químicos (fluazinam 1,0 L.ha<sup>-1</sup> y procimidona 1,5 kg.ha<sup>-1</sup>) aplicados mediante riego por goteo en tomate para el manejo de la pudrición blanca, los fungicidas no controlaron la enfermedad, mientras que los agentes de control biológico redujeron la incidencia en alrededor de un 80% y pueden ser una herramienta importante en el manejo integrado de la enfermedad (De Aguiar et al., 2014).

Otra enfermedad importante causada por un patógeno habitante del suelo es la marchitez por fusarium causado por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, que es uno de los principales problemas fitosanitarios en el cultivo del tomate (Lopes; Ávila, 2005). Este hongo infecta a las plantas a través de las raíces y coloniza el sistema vascular, estas características hacen de esta enfermedad una enfermedad difícil de controlar. Hongos del género *Trichoderma* spp. han sido estudiados como agentes potenciales para el biocontrol de la marchitez por fusarium, con trabajos en laboratorio, invernadero y en campo (Li et al. 2017; Ethur et al., 2008).

El tratamiento de semillas puede ser una opción para el control de patógenos que habitan en el suelo. Ethur et al. (2008) trataron semillas de tomate para el control de la marchitez por fusarium con un aislado de *T. harzianum* y con el fungicida thiram y observaron que el tratamiento con el agente de control biológico aplicado individualmente proporcionó un control de 56%, mientras que el fungicida controló solo el 15% de la enfermedad, además, el tratamiento con *T. harzianum* mostró un menor porcentaje de plántulas anormales y mayor desarrollo de la raíz. En un estudio realizado por Li et al. (2017), fueron aisladas diferentes especies de *Trichoderma* spp. y se probó su capacidad antagonista contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, destacando el aislado *T. asperellum* por su capacidad de reducir la severidad de la enfermedad en 69,5%.

La fusariosis o marchitez del pepino, causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, es una de las principales enfermedades en pepino cultivado en campo y en ambientes protegidos, donde es aún más común y agresivo (Blancard et al., 1996; Zambolim et al., 2000). Ethur et al. (2012) probaron diferentes aislamientos de *T. asperellum* para el control de fusariosis mediante tratamiento de semillas, donde se observó hasta un 46% de control de la enfermedad, mientras que el tratamiento con el fungicida thiram controló la enfermedad solo en un 28%. Otra enfermedad en plantas de pepino causada por un patógeno habitante del suelo es el *damping-off* producido por *Rhizoctonia solani* AG4-AH1. Para el control de este patógeno se observó la eficiencia de productos biológicos comerciales en el control del *damping-off* en tres cultivares en la región suroccidental de Paraná y se constató que para todos los tratamientos con *T. harzianum* las plántulas mostraron un crecimiento similar al testigo sin patógeno, considerando que en el testigo con patógeno hubo marchitez en preemergencia y las plántulas que emergieron mostraron decaimiento dentro de los 12 días, sin dejar plantas sobrevivientes al final del experimento (Figura 2).



**Figura 2.** A) Tratamiento testigo sin tratamiento, con síntomas de damping-off en pre y postemergencia en un suelo infestado con *R. solani*. B) Suelo infestado con *R. solani* y tratado con un producto a base de *T. harzianum* en formulación en polvo mojable, C) Suelo infestado con *R. solani* y tratado con un producto a base de *Trichoderma harzianum* en formulación líquida.

*Trichoderma* spp. también pueden ser utilizadas en el control de enfermedades de la parte aérea. En tomate se probaron los hongos *T. harzianum* y *Gliocladium viride* para el control del moho gris causado por *Botrytis cinerea* y se encontró que los aislados fueron efectivos en cultivos protegidos, mediante aplicaciones foliares semanales (Lisboa et al., 2007). En el caso de la misma enfermedad, Elad (2000) probó la eficiencia de un aislado de *T. harzianum* y observó que la incidencia alcanzaba tasas elevadas en las plantas utilizadas como control, sin embargo, con la aplicación de *T. harzianum* la incidencia se redujo hasta en un 77%.

Para las enfermedades de la parte aérea, los estudios muestran avances en cuanto a la inducción de resistencia. La actividad de la peroxidasa en plantas de melón se incrementó siete veces ocho horas después del tratamiento con celulasa obtenida de *T. longibrachiatum*, y se extendió hasta 120 horas después del tratamiento, de igual forma, la actividad de la enzima quitinasa se activó luego de seis horas después del tratamiento, con un pico máximo a las 48 y 72 horas después que las plantas de melón fueron tratadas (Martínez et al., 2001).

Resultados experimentales mostraron que el tratamiento de semillas de tomate con esporas de *T. asperellum* provocó el aumento la actividad enzimática de la fenilalanina amonio liasa en un 57,19%, el peróxido en un 105,1% y la polifenoloxidasas en un 21,75% en plantas tratadas en comparación con el control, además, las secciones de tallo con tinción histoquímica mostraron una mayor deposición de lignina en plantas tratadas (Singh et al., 2016). En un estudio realizado por Chowdappa et al. (2013) se observó que *T. harzianum* inhibió el crecimiento micelial de *Alternaria solani* y *Phytophthora infestans*, además de promover un aumento significativo en el crecimiento de raíces y brotes, área foliar e índice de vigor de las plántulas de tomate. En cuanto a la inducción de la resistencia, los mismos autores encontraron que hubo un aumento del ácido indolacético en un 54,34% y de ácido giberélico en un 67,59% en plantas inoculadas con *T. harzianum*, en comparación con los controles no inoculados, las enzimas polifenol oxidasas, peroxidasa y superóxido dismutasa aumentaron la actividad en un 67,77; 59,93 y 46,69%, respectivamente.

En un estudio realizado por You et al. (2016), 28 aislamientos de *Trichoderma* spp. fueron evaluados en cuanto a su potencial como biocontrol de *B. cinerea* y en la promoción de la germinación de semillas de tomate, los autores observaron que los aislamientos de *T. harzianum* y *T. koningiopsis* promovieron el crecimiento de las plantas de tomate, a través de la producción de giberelinas y ácido indol-3-acético y promovieron la resistencia sistémica inducida contra *B. cinerea*. Además, los mismos autores encontraron que los aislamientos de *T. harzianum* suprimieron la esporulación de *B. cinerea* en un promedio de 63%.

El aumento de los niveles de ácido indolacético y ácido giberélico son algunos de los principales mecanismos con los que los agentes de biocontrol promueven el crecimiento de brotes, raíces y área foliar en plantas de tomate (Chowdappa et al., 2013). Se cree que estas hormonas estimulan una mayor absorción de nutrientes del suelo, traducen las señales entre los órganos de la planta y las integran para producir respuestas de defensa adecuadas frente al estrés biótico o abiótico (Ghanashyam & Jain, 2009).

La especie *T. asperellum* ha sido identificada por su capacidad de promover el crecimiento de plántulas debido al aumento significativo del peso seco en 28,6 %, la solubilización del  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  y la producción de sideróforos (Li et al., 2017). En otro estudio se observó un aumento en los parámetros vegetativos en plantas tratadas con *T. asperellum* en relación

con plantas no tratadas después de 60 días, observándose un aumento del 50 y 83,7% en la longitud de los brotes y de la raíz en plantas tratadas en comparación con las plantas del tratamiento control, así como un aumento en el contenido total de clorofila (Patel; Saraf, 2017). En un estudio realizado por Fontenelle et al. (2011), quienes evaluaron la capacidad de 28 aislamientos de *Trichoderma* spp. en la promoción del crecimiento de las plantas de tomate se observó que doce aislados promovieron un aumento del peso de la materia seca de la planta por encima del 100 %.

Se evaluó la capacidad del agente de control biológico *T. harzianum* para promover el crecimiento de plantas de pepino cultivado en suelo y en condiciones de crecimiento hidropónico y se observó un aumento del 30% en la emergencia de plántulas después de 8 días de la siembra. En el mismo estudio, se encontró que después de 28 días, las plantas exhibieron un aumento de 95 y 75% en área y longitud de raíces, respectivamente, y un aumento del 80% en el peso seco, un aumento de 45% en la longitud de la parte aérea (Yedidia et al., 2001). Semillas de diferentes cultivos de hortalizas de fruto fueron tratadas con diferentes concentraciones de esporas de *T. asperellum* y dieron como resultado un aumento del peso seco del 29,69% en tomate, 67,06% en berenjena, 88,18% en pimentón y 67,83% en oca o quimbombó (Singh et al., 2016).

Algunos aislados de *Trichoderma* spp. pueden penetrar las raíces de las plantas y vivir como microorganismos endófitos (Kleifeld y Chet, 1992). Además, los aislados de *Trichoderma* spp. Además, se ha reportado que los aislados de *Trichoderma* spp. pueden producir compuestos bioestimulantes similares a hormonas que pueden aumentar la absorción de nutrientes por parte de las plantas (Harman, 2006; Lopez-Mondejar et al., 2011). Así, la aplicación de microorganismos benéficos en semillas para la producción de plántulas puede promover un rápido establecimiento después del trasplante para lograr mejores rendimientos (Colla et al., 2015). Al evaluar el efecto bioestimulante de *T. atroviride* en hortalizas, se encontró que el aislado podía producir sideróforos y compuestos tipo auxinas en una amplia variedad de condiciones de pH del sustrato (5,5-8,0), además, se observó que hubo un aumento en el peso seco de la raíz, el índice de clorofila y la fluorescencia de la clorofila en lechuga, tomate y calabacín (Colla et al., 2015). En condiciones de invernadero, el peso seco de la parte aérea aumentó significativamente en 167, 56, 115, 68 y 58% en lechuga, melón, pimentón, tomate y calabacín, respectivamente, lo que se asoció con un aumento en el nivel de absorción de nutrientes P, Mg, Fe, Zn y B (Colla et al., 2015).

Asimismo, los agentes de biocontrol pueden ayudar a las plantas a adaptarse a condiciones de estrés, alterando algunos procesos metabólicos, como en la tolerancia al estrés por frío (Chepsergon et al., 2016) o la salinidad (Gal-Hemed et al., 2011). Algunas cepas de *Trichoderma* spp. colonizan las raíces de las plantas y son capaces de inducir cambios

significativos en la expresión génica, lo que puede conducir a un aumento del crecimiento vegetativo, también en condiciones de estrés biótico y abiótico (Ghorbanpour et al., 2018).

La mayoría de los cultivares de tomate se consideran plantas sensibles al frío, lo que restringe el cultivo a regiones con un clima templado. En un estudio realizado en Irán, se aplicó el hongo *T. harzianum* en plantas para evaluar su tolerancia al frío, los resultados indicaron que los tratamientos redujeron los efectos adversos causados por el estrés, donde las plantas colonizadas por *T. harzianum* exhibieron menores niveles de fuga de electrolitos, lo que sugiere que el hongo protege las membranas por inducción de la producción de prolina, la cual fue mayor en plantas tratadas con *T. harzianum* (Ghorbanpour et al., 2018). Este hecho es confirmado por estudios proteómicos y transcriptómicos que revelan que ocurren cambios moleculares debido a la interacción de las plantas con los metabolitos de *Trichoderma* (Marra et al., 2006) y/o colonización de raíces (Shoresh; Harman 2008).

Estudios realizados en la región mediterránea para la búsqueda de agentes de control biológico halotolerantes permitieron la identificación de aislados de *Trichoderma* spp. con gran potencial para inducir resistencia a *Pseudomonas syringae* pv. *Iachrimans* en plántulas de pepino (Gal-Hemed et al., 2011). Además, los autores seleccionaron 29 cepas de aislados de *Trichoderma* pertenecientes a las especies *T. atroviride*, *T. harzianum* y *T. asperelloides* con potencial para su uso como agentes de control biológico en regiones áridas bajo riego (Gal-Hemed et al., 2011).

## Hortalizas de hoja

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es la hortaliza de hoja más consumida en el país (Resende et al., 2018). Este cultivo, al igual que los demás, es blanco de una amplia variedad de fitopatógenos, entre los cuales los patógenos habitantes del suelo son responsables de grandes reducciones en la productividad. Así, la introducción de productos a base de *Trichoderma* spp. en el manejo de este cultivo, tiene un gran potencial en el control de estas enfermedades, dada su capacidad de desarrollo en el suelo y fácil estabilización en el ambiente. Dias et al., (2013) probaron la capacidad de 10 aislados de *Trichoderma* spp. en el control de *R. solani* en lechuga, donde el aislado T-03 ( $10^9$  conidios.mL<sup>-1</sup>) fue similar al testigo no inoculado con el patógeno y en comparación con el testigo inoculado hubo una reducción en la incidencia del *damping-off* en plántulas de 86,3%.

El hongo *Sclerotinia sclerotiorum* también es un importante patógeno habitante del suelo que causa daños a este cultivo. Se encontró que la presencia de *S. sclerotiorum* en el sustrato utilizado para la producción de plántulas reduce significativamente el porcentaje de germinación de las semillas de lechuga, pero la aplicación de *T. asperellum* y *T. harzianum* en el suelo reduce este efecto, además, es capaz de promover aumentos en la longitud de la parte aérea en plántulas de lechuga de hasta 1,16 cm o 34% (Silva et al., 2015).



Se evaluó la capacidad de los aislados fúngicos de *T. hamatum*, *T. virens* y *T. rossicum* para suprimir la pudrición blanca causada por *S. sclerotiorum*, mediante la incorporación de suspensiones de esporas en el sustrato de siembra, los aislados *T. hamatum* y *T. virens* redujeron la enfermedad en un 30 y 50% en condiciones de alta presión de la enfermedad (Rabeendran et al., 2006). En el mismo estudio, en experimentos de campo, la pudrición blanca alcanzó el 77% de las plantas infectadas a la cosecha en parcelas no tratadas, mientras que en las parcelas tratadas con *T. hamatum* hubo una reducción del 92% en la incidencia de la enfermedad (Rabeendran et al., 2006).

Además de los hongos habitantes del suelo, la lechuga es muy sensible a los nematodos, que pueden causar grandes daños al cultivo. Sin embargo, la aplicación de productos biológicos a través del suelo, como los productos con formulación a base de *Trichoderma* spp. han estado mostrando excelentes resultados (Figura 3).



Fotos: Jaime Maia dos Santos.

**Figura 3.** Raíces de lechuga infectadas con el nematodo agallador (*Meloidogyne* spp.). Las dos plantas de la izquierda fueron tratadas con *Trichoderma* spp., y las de la derecha no fueron tratadas.

Los efectos beneficiosos producidos por estos microorganismos dependen, entre otros aspectos, de su establecimiento en el medio ambiente y su capacidad de adaptación a las nuevas condiciones, así como de la densidad de inóculo que sobrevive tras su aplicación. Luego de la adición de aislados de *T. atroviride* y *T. harzianum* al suelo para el manejo del cultivo de lechuga, se verificó mediante multiplex-PCR y pruebas convencionales de siembra en placas de las muestras de suelo y posterior conteo de colonias que estos aislamientos persisten en suelo hasta por dos años, con una cantidad estimada de  $10^3$  UFC g de suelo<sup>-1</sup> a  $10^5$  UFC g de

suelo<sup>1</sup> (Oskiera et al., 2017). En un estudio realizado por Smolinska et al. (2014), al probar residuos y subproductos agroindustriales orgánicos a base de bagazo de manzana y fresa, cebolla seca y harina de canola como sustrato para *T. harzianum*, encontraron que la mezcla de residuos orgánicos facilitaba el almacenamiento y las aplicaciones del antagonista, promovió el crecimiento de plántulas de perejil en 378%, además de aumentar la población microbiana del suelo y facilitar la adaptación de *T. harzianum* en el suelo.

También es importante mencionar el cultivo de hortalizas en sistema hidropónico, el cual se ha extendido por todo Brasil, principalmente en el caso del cultivo de lechuga. Sin embargo, muchos patógenos pueden propagarse fácilmente a través de la solución nutritiva, entre ellos los hongos del género *Pythium* spp. Pringsheim, han recibido atención por las grandes pérdidas que ocasionan en la productividad (Owen-Going et al., 2003; Sutton et al., 2006). La eficacia de un producto comercial a base de *Trichoderma* sp. en el control de *P. aphanidermatum* en cultivo hidropónico de lechuga, se observó que, en los tratamientos con el producto, las plantas mostraron un incremento de más del 400% en la longitud de las raicillas y del 61% en el número de plántulas sobrevivientes, lo que demostró la reducción de la enfermedad.

Las crucíferas también representan un grupo importante dentro de las hortalizas de hoja. La hernia de las crucíferas provocada por el patógeno *Plasmodiophora brassicae* es una de las principales limitantes para la producción de la col o repollo. Por esta razón, un estudio realizado en Colombia tuvo como objetivo explorar el efecto de *T. koningiopsis* (como producto en polvo) sobre la enfermedad y el crecimiento de plantas de repollo cultivadas en campo con antecedentes de la enfermedad. Se observó que las parcelas tratadas con *T. koningiopsis* presentaron menor incidencia y severidad de la enfermedad y plantas con mayor materia seca (Botero et al., 2015). Las bacterias también son responsables de la reducción de la productividad de las brassicas, como es el caso de la bacteria gram negativa *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* que causa la enfermedad conocida como pudrición blanda. Hongos del género *Trichoderma* spp. también se han estudiado para el control de esta enfermedad, sin embargo, la acción antibacteriana no está del todo dilucidada. Se sabe que estos hongos son capaces de producir sustancias antimicrobianas, que pueden actuar directamente sobre los microorganismos y también sobre las plantas, induciendo respuestas de defensa.

Las tricoconinas son sustancias producidas por *Trichoderma* spp., que juegan un papel clave en el control de enfermedades de plantas (Li et al., 2014). Se probó la capacidad de estas sustancias para controlar la pudrición blanda del repollo chino y se encontró que las Trichokonins provocaron el aumento de la resistencia de plantas contra

la infección por *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, sin embargo, este compuesto no inhibió el crecimiento del patógeno *in vitro*, incluso en altas concentraciones. No obstante, mediante análisis bioquímicos se encontró que este compuesto incrementó la producción de especies reactivas de oxígeno y las actividades de las enzimas catalasa, polifenoloxidasas y peroxidasa, lo que indica que estos compuestos inducen resistencia en el repollo chino contra la infección por *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Li et al., 2014).

### Hortalizas de tubérculo

Al igual que para los cultivos antes mencionados, para las hortalizas de tubérculos, la mayoría de los estudios que utilizan *Trichoderma* spp. para el control de enfermedades se dirige al manejo de patógenos habitantes del suelo. Entre los patógenos más importantes en estos cultivos se incluyen *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii*, *F. oxysporum* f. sp. *cepae* y *Pythium* spp.

La pudrición blanca causada por el hongo *S. cepivorum* es una de las enfermedades más importantes y destructivas de las Aliáceas en todas las regiones de cultivo. En cultivos intensivos producidos en áreas contaminadas, las pérdidas por la enfermedad pueden llegar a 100%, haciendo que el lugar no sea apto para el cultivo (Nunes; Kimati, 2004). El hongo *Trichoderma* spp. ha sido utilizado en el control de diversas enfermedades de plantas de importancia agrícola y se presenta como una de las mejores alternativas para el control de la pudrición blanca en cultivos de ajo y cebolla. Dilbo et al. (2015) encontraron que el uso de *Trichoderma* spp. para el manejo de *S. cepivorum* también ha sido combinado con el uso de fungicidas químicos, donde los resultados revelan que la efectividad de los fungicidas Apron Star 42 WS y tebuconazol, probados de manera individual, fue menor que cuando se usaron con *Trichoderma* spp. (*T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. oblongisporum* y *T. viride*) solos o con tratamientos combinados (Figura 4).



**Figura 4.** A) Efecto de los tratamientos con *T. viride* y el patógeno *S. cepivorum* (a), el fungicida Apron Star 42 WS y el patógeno *S. cepivorum* (b) comparado con el control absoluto (c) sobre la severidad de la enfermedad causada por *Sclerotium cepivorum*. B) Efecto del tratamiento combinando el fungicida Apron Star 42 WS, el patógeno y los agentes de control biológico *T. hamatum* y *T. viride* sobre la severidad de la enfermedad causada por *Sclerotium cepivorum*.

Con relación al mismo patógeno, Clarkson et al. (2004) demostraron que los aislados de *T. viride* y *T. pseudokoningii* degradaron el 80% de los esclerocios presentes en suelos arcillosos, lo cual se consideró una característica importante de este antagonista, teniendo en cuenta que las estructuras de resistencia son importantes fuentes de inóculo para la ocurrencia de la enfermedad.

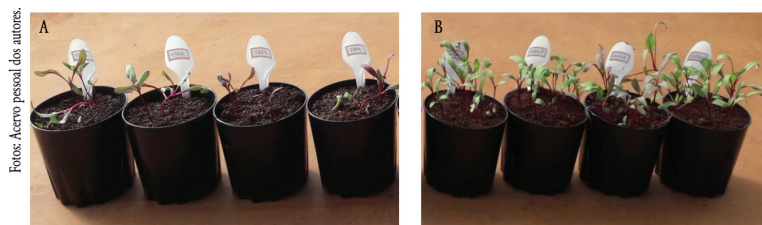
Otro patógeno del mismo género es *S. rolfsii*, que es bastante agresivo y es agente causal de la pudrición por sclerotinia en varios cultivos de hortalizas, incluido el ajo (*Allium sativum*). En un estudio realizado por Souza (2012) se encontró que el tratamiento con *T. harzianum* disminuyó el número de plantas infectadas, aumentó la materia seca de la parte aérea y raíces en comparación con el control y también disminuyó el número de esclerocios producidos por *S. rolfsii*.

El hongo habitante del suelo *F. oxysporum* f. sp. *cepae* causa la pudrición blanda, también conocida como fusariosis. La pudrición blanda está presente en todo el mundo, siendo uno de los principales problemas del cultivo de cebolla durante el curado en campo y el almacenamiento (Pereira et al., 2014; Galeano et al., 2014). Para el control de esta enfermedad se trataron semillas de cebolla con polvo seco de *T. harzianum* y con el fungicida prochloraz (1,35 ml.kg<sup>-1</sup> semilla), descrito como el más efectivo para el control de la enfermedad y se encontró que el tratamiento con el agente de control biológico se redujo la incidencia a un nivel comparable al del fungicida, tanto en invernadero como en campo, y además, el tratamiento con *T. harzianum*

también provocó el incremento en el diámetro de los bulbos de cebolla (Coskuntuna; Özer, 2008). Para el cultivo de zanahoria, la eficiencia de la aplicación de *Trichoderma* sp. también ha sido probado contra el patógeno *Pythium* spp. En experimentos de campo que evaluaron el tratamiento químico con mefenoxam a dosis de 0,5 L ha<sup>-1</sup> en dos aplicaciones, comparado con un tratamiento a base de *T. atroviride* a la dosis de 5 kg ha<sup>-1</sup> aplicado al momento de siembra, el agente biológico fue eficaz en la prevención de nuevas infecciones por *Pythium* sp. en cultivo de zanahoria.

*S. sclerotiorum* es patogénico en varios cultivos, incluida la zanahoria, donde la enfermedad generalmente no presenta síntomas en el campo y el mayor daño ocurre durante el período de almacenamiento (Kora et al., 2005). La aplicación de fungicidas químicos y biológicos en campo puede reducir la severidad de la enfermedad durante el almacenamiento, sin embargo, los investigadores se han interesado en buscar alternativas de control que reduzcan el número de aplicaciones y, consecuentemente los costos de producción. Ojaghian et al. (2018) introdujeron el gen *Chit42* de *T. harzianum* en plantas de zanahoria, este gen es responsable de la producción de la enzima quitinasa que degrada la quitina presente en la pared celular del hongo. Mediante la inserción de este gen, la severidad de la enfermedad se redujo en un 78% a los tres y seis días y en un 81% a los 12 días (Ojaghian et al., 2018). Este estudio demuestra que además de los métodos tradicionales de control biológico ya mencionados con el uso de *Trichoderma* spp., este hongo tiene un gran potencial para ser utilizado en el mejoramiento genético de plantas, donde el uso de plantas resistentes o moderadamente resistentes es una herramienta importante para el manejo integrado de enfermedades en hortalizas.

También es importante mencionar que se han logrado resultados prometedores con la asociación entre especies de *Trichoderma* spp. y los sustratos orgánicos, los cuales pueden facilitar el establecimiento del hongo en el medio ambiente y, además, pueden servir como fuente de nutrientes para las plantas. Los hongos *T. harzianum*, *T. flavus* y *T. asperellum* fueron probados en asociación con turba y salvado de arroz para evaluar su efecto sobre el *damping-off* en plántulas de remolacha causado por *R. solani*, promoviendo un aumento de hasta un 204% en el número de plántulas libres de síntomas (Kakvan et al., 2013). También en este sentido, para controlar el *damping-off* en plántulas de remolacha causado por *R. solani*, se probó un producto comercial a base del hongo *T. harzianum* en asociación con la biofumigación con polvo y extracto de canola y se encontró que la asociación aumenta el control de la enfermedad, reduce la concentración del inóculo del patógeno en el suelo y aumenta la actividad microbiana del suelo, en invernadero y en campo (Figura 5).



**Figura 5.** Plántulas de remolacha de un experimento con suelo biofumigado con extracto de canola al 12% sin (A) y con (B) *Trichoderma harzianum*.

## Consideraciones finales

La constante evolución en la preocupación por las formas de cultivo, las consecuencias para el medio ambiente y para la salud humana, además de la ineficiencia de los productos químicos tradicionales son las principales motivaciones que favorecen el uso de productos biológicos y la investigación de nuevos agentes de control biológico. En cuanto al uso práctico de estos productos, corresponde a los extensionistas y profesionales del área técnica comprender la importancia y eficiencia de estos productos y llevar este conocimiento a los productores de hortalizas. Sin embargo, aunque tenemos varios productos registrados en el mercado a base de *Trichoderma* spp. todavía hay una gran lista de patógenos que se pueden estudiar. Adicionalmente, para los principales cultivos hortícolas es necesario que se realicen más investigaciones en condiciones de campo.

## Referencias

- BLANCARD, D.; LECOQ, H.; PITRAT, M. **Enfermedades de las cucurbitáceas**: Observar, identificar, luchar. Madrid: Mundi-Prensa, 1996. 301 p.
- BOTERO, A.; GÓMEZ, I.; BENÍTEZ, E.; GARCÍA, C. Liming with dolomite reduces the efficacy of the biocontrol fungus *Trichoderma koningii* against cabbage clubroot. **Agron. Colomb.**, v. 33, n. 1, p. 49-57, 2015.
- CHEPSERGERON, J.; MWAMBURI, L. A.; KIPROP, K. E. Ability of *Trichoderma harzianum* from Semi-Arid Soils to Enhance Antioxidant Defense of Maize Seedlings under Water Stress. **British Microbiology Research Journal**, v. 17, n. 3, p. 1-9, 2016.
- CHOWDAPPA, P.; KUMAR, S. P. M.; LAKSHMI, M. J.; UPRETI, K. K. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis*: OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biological Control**, v. 65, p. 109-117, 2013.
- CLARKSON, J. P.; MEAD, A.; PAYNE, T.; WHIPPS, J. M. Effect of environmental factors and *Sclerotium cepivorum* isolate on sclerotial degradation and biological control of white rot by *Trichoderma*. **Plant Pathology**, v. 53, p. 353-362, 2004.
- COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; DI MATTIA, E.; EL-NAKHEL, C.; CARDARELLI, M. Co inoculation of *Glomus intraradices* and *Trichoderma atroviride* acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of vegetable crops. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 3, p. 1706-1715, 2015.
- COSKUNTUNA, A.; ÖZER, N. Biological control of onion basal rot disease using *Trichoderma harzianum* and induction of antifungal compounds in onion set following seed treatment. **Crop Protection**, v. 27, p. 330-336, 2008.
- DE AGUIAR, R. A.; CUNHA, M. G.; JUNIOR, M. L. Management of white mold in processing tomatoes by *Trichoderma* spp. and chemical fungicides applied by drip irrigation. **Biological Control**, v. 74, n. 2, p. 1-5, 2014.



- DIAS, P. P.; BERBARA, R. L. L.; FERNANDES, M. C. A. Controle de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* por biopreparados de isolados de *Trichoderma* spp. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 4, p. 258-262, 2013.
- DILBO, C.; ALEMU, M.; LENCHO, A.; HUNDUMA, T. Integrated Management of Garlic White Rot (*Sclerotium cepivorum* Berk) Using Some Fungicides and Antifungal *Trichoderma* Species. **Journal of Plant Pathol and Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 2-9, 2015.
- ELAD, Y. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. **Crop Protection**, v. 19, n. 8, p. 709-714, 2000.
- ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; CAMARGO, R. F.; FLORES, M. G. V.; CRUZ, J. L. G.; MENEZES, J. P. *Trichoderma harzianum* no desenvolvimento e na proteção de mudas contra a fusariose do tomateiro. **Ciência e Natura**, v. 30, p. 57-69, 2008.
- ETHUR, L. Z.; LUPATINI, M.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B.; ANTONIOLLI, Z. I.; LORENTZ, L. H. *Trichoderma asperellum* na produção de mudas contra a fusariose do pepineiro. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 4, p. 73-84, 2012.
- FONTENELLE, A. D. B.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M.; HARA KAWA, R. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. **Crop Protection**, v. 30, n. 11, p. 1492-1500, 2011.
- GALEANO, P.; GONZÁLEZ, P. H.; FRAGUAS, L. F.; GALVÁN, G. A. Age-related resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and associated enzymatic changes in seedlings of *Allium cepa* and *A. fistulosum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 5, p. 374-383, 2014.
- GAL-HEMED, I.; ATANASOVA, L.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. S.; VITERBO, A.; YARDEN, O. Marine Isolates of *Trichoderma* spp. as Potential Halotolerant Agents of Biological Control for Arid-Zone Agriculture. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 15, p. 5100-5109, 2011.
- GHANASHYAM, C.; JAIN, M. Role of auxin-responsive genes in biotic stress responses. **Plant Signaling and Behavior**, v. 4, p. 846-848, 2009.
- GHORBANPOUR, A.; SALIMI, A.; GHANBARY, M.; PIRDASHTI, H.; DEHESTANI, A. The effect of *Trichoderma harzianum* in mitigating low temperature stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. **Scientia Horticulturae**, v. 230, n. 2, p. 134-141, 2018.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.
- KAKVAN, N.; HEYDARI, A.; ZAMANIZADEH, H. R.; REZAEI, S.; NARAGHI, L. Development of new bioformulations using *Trichoderma* and *Talaromyces* fungal antagonists for biological control of sugar beet damping-off disease. **Crop Protection**, v. 53, p. 80-84, 2013.
- KATAN, J. Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. **Journal of Plant Pathology**, v. 99, p. 305-315, 2017.
- KLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma harzianum* – interaction with plants and effect on growth response. **Plant and Soil**, v. 144, n. 2, p. 267-272, 1992.
- KORA, C.; MCDONALD, M. R.; BOLAND, G. J. Epidemiology of sclerotinia rot of carrot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 27, n. 2, p. 245-258, 2005.
- LI, H.; LUO, Y.; ZHANG, X.; SHI, W.; GONG, Z.; SHI, M.; CHEN, L.; CHEN, X.; ZHANG, Y.; XIAO-YAN, C. Trichokonins de *Trichoderma pseudokoningii* SMF2 induzem resistência contra Gram-negativo *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* em repolho chinês. **FEMS Microbiology Letters**, v. 354, n. 1, p. 75-82, 2014.
- LI, Y.; HWANG, S.; HUANG, Y.; HUANG, C. Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and *Fusarium* wilt of tomato. **Crop Protection**, v. 110, p. 275-282, 2017.
- LISBOA, B. B.; BOCHESI, C. C.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, J. R. K.; RADIN, B.; OLIVEIRA, A. M. R. Eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1255-1260, 2007.
- LOPES, A. C.; ÁVILA, C. A. **Doenças do Tomateiro**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2005. 151 p.
- LÓPEZ-MONDÉJAR, R.; ROS, M.; PASCUAL, J. A. Mycoparasitism-related genes expression of *Trichoderma harzianum* isolates to evaluate their efficacy as biological control agent. **Biological Control**, v. 56, n. 1 p. 59-66, 2011.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

- MARRA, R.; AMBOSINO, P.; CARBONE, V.; VINALE, F.; WOO, S. L. Study of the three-way interaction between *Trichoderma atroviride*, plant and fungal pathogens using a proteome approach. **Current Genetics**, v. 50, n. 4, p. 307-321, 2006.
- MARTINEZ, C.; BLANC, F.; LE CLAIRE, E.; BESNARD, O.; NICOLE, M.; BACCOU, J. Salicylic Acid and Ethylene Pathways Are Differentially Activated in Melon Cotyledons by Active or Heat-Denatured Cellulase from *Trichoderma longibrachiatum*. **Plant Physiology**, v. 127, n. 1, p. 334-344, 2001.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. de (Eds.). **Controle Biológico**. Jaguaruina: Embrapa Meio Ambiente, 1998. p. 17-60.
- NUNES, M. E. T.; KIMATI, H. **Doenças do alho e cebola**. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. Piracicaba: Ceres, 2004. p. 49-64.
- OJAGHIAN, S.; WANG, L.; XIE, G. L.; ZHANG, J. Z. Increased resistance against storage rot in transgenic carrots expressing chitinase *chi42* from *Trichoderma harzianum*. **Scientia Horticulturae**, v. 234, p. 81-86, 2018.
- OSKIERA, M.; SZCZECZ, M.; ST POWSKA, A.; SMOLINSKA, U.; BARTOSZEWSKI, G. Monitoring of *Trichoderma* species in agricultural soil in response to application of biopreparations. **Biological Control**, v. 113, p. 65-72, 2017.
- OWEN-GOING, N.; SUTTON, J. C.; GRODZINSKI, B. Relationships of *Pythium* isolates and sweet pepper plants in single-plant hydroponic units. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 25, n. 3, p. 155-167, 2003.
- PAPAVIZAS, G. C.; LEWIS, J. A.; ABD EL MOITY, T. H. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to Benomyl and enhanced biocontrol capabilities. **Phytopathology**, v. 72, n. 4, p. 126-132, 1982.
- PATEL, S.; SARAF, M. Biocontrol efficacy of *Trichoderma asperellum* MSST against tomato wilting by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lyopersici*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 50, n. 5, p. 228-238, 2017.
- PEREIRA, R. B.; OLIVEIRA, V. R.; PINHEIRO, J. B. **Diagnose e manejo de doenças fúngicas na cultura da cebola**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2014. 16 (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 133). Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1007653/1/CT133.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2019.
- RABEENDRAN, N.; JONES, E. E.; MOOT, D. J.; STEWART, A. Biocontrol of *Sclerotinia* lettuce drop by *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma hamatum*. **Biological Control**, v. 39, n. 3, p. 352-362, 2006.
- REIS, A.; LOURENÇO JUNIOR, V.; LOPES, C. A. Mofó branco em hortaliças no Brasil. In: LOPES, U. P.; MICHEREFF, S. J. **Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos**. Recife: EDUFURPE, 2018. 219 p.
- RESENDE, G. M.; YURI, J. E.; COSTA, N. D. **Instruções Técnicas da Embrapa Semiárido: cultivo de alface-crespa no Submédio do Vale do São Francisco**. Petrolina, PE: Embrapa, 2018. 2 f.
- SHORESH, M.; HARMAN, G. E. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: a proteomic approach. **Plant Physiology**, v. 147, p. 2147-2163, 2008.
- SILVA, G. B. P.; HECKLER, L. I.; SANTOS, R. F.; DURIGON, M. R.; BLUME, E. Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 4, p. 33-42, 2015.
- SINGH, V.; UPADHYAY, R. S.; SARMA, B. K.; SINGH, H. B. *Trichoderma asperellum* spore dose depended modulation of plant growth in vegetable crops. **Microbiological Research**, v. 193, p. 74-86, 2016.
- SMOLINSKA, U.; KOWALSKA, B.; KOWALCZYK, W.; SZCZECZ, M. The use of agro-industrial wastes as carriers of *Trichoderma* fungi in the parsley cultivation. **Scientia Horticulturae**, v. 179, n. 2, p. 1-8, 2014.
- SOUZA, G. T. **Controle da podridão por *Sclerotium rolfsii* em alho (*Allium sativum*) e cebola (*Allium cepa* L.) por *Trichoderma***. 2012. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - Programa de Pós Graduação em Agronomia, Brasília.
- SUTTON, J. C.; SOPHER, C. R.; OWEN-GOIN, T. N.; LIU, W.; GRODZINSKI, B.; HALL, J. C.; BENCHIMOL, R. L. Etiology and epidemiology of *Pythium* root rot in hydroponic crops: current knowledge and perspectives. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 307-321, 2006.



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**, v. 235, n. 2, p. 235-242, 2001.

YOU, J.; ZHANG, J.; WU, M.; YANG, L.; CHEN, W.; LI, G. Multiple Criteria-based Screening of *Trichoderma* isolates for Biological Control of *Botrytis cinerea* on Tomato. **Biological Control**, v. 101, p. 31-38, 2016.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; LOPES, C. A.; VALE, F. X. R. Doenças de hortaliças em cultivo protegido. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. (Eds) **Controle de doenças de plantas: hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000. p. 373-407.

## Uso de *Trichoderma* en el cultivo de manzana

Rosa Maria Valdebenito Sanhueza

Vinicius Adão Bartnicki

El cultivo del manzano (*Malus domestica* Bork) es susceptible al ataque de muchos patógenos en las diferentes etapas de su producción, tanto en la parte aérea, en el sistema radicular como en los frutos. En frutos, la susceptibilidad puede ocurrir antes de la cosecha, durante el proceso de formación del fruto, y después de la cosecha, durante el procesamiento, almacenamiento, transporte y comercialización.

Las enfermedades pueden ser causadas por una variedad de patógenos que pueden beneficiarse o depender de la presencia de heridas naturales o heridas producidas durante el manejo de los huertos o por organismos que producen infección directa en la planta. Algunos de estos patógenos infectan las plantas, y los síntomas pueden ser evidentes incluso en el campo y en otras situaciones, donde causan infecciones que permanecen inactivas y los síntomas se manifiestan en los órganos afectados después de un largo período.

Los enfoques y tácticas de control incluyen prácticas de control cultural y químico, sin embargo, en la última década ha ido en aumento la incorporación de insumos alternativos al manejo de enfermedades en las zonas productoras de manzana.

El control biológico de fitopatógenos asociados a enfermedades del manzano utilizando cepas de *Trichoderma* ha sido señalado y donde se destacan las características de este grupo de hongos de tener un rápido crecimiento y abundante esporulación, factores importantes para la ocupación previa de los sitios de infección y colonización de patógenos. Esta forma de aprovechamiento de las cepas de *Trichoderma* se complementa con la producción de metabolitos y micoparasitismo, lo que contribuirá a la reducción del inóculo inicial de los patógenos.

Los primeros trabajos sobre el control biológico de fitopatógenos en manzano se desarrollaron en la década de 1970, cuando se estudió la colonización por cepas de

*Trichoderma* para el control preventivo de fitopatógenos que colonizaban las flores y los que penetraban por heridas en los frutos. Posteriormente, en la década de 1980, se produjo un importante incremento de trabajos de investigación sobre el control de hongos del suelo que provocaban daños en el sistema radicular y tronco de los manzanos y el uso de cepas antagonistas en asociación con otros métodos de control, principalmente métodos físicos y químico.

En los últimos años ha habido una evolución en el uso de *Trichoderma* como agente de biocontrol en diversas enfermedades en el cultivo de manzana (Batta, 2004; Bordbar et al., 2010, Quaglia et al., 2011, González-Estrada et al. 2018).

### ***Trichoderma* en el control de patógenos de manzana en postcosecha**

Se han reportado varias especies de *Trichoderma* por su eficiencia en el control de patógenos en diversas especies de frutales. Entre ellos se encuentran los patosistemas fresa versus *Botrytis cinerea*, cítricos versus *Penicillium italicum*, kiwi versus *B. cinerea*, banano versus *Colletotrichum musae*, guayaba versus *Rhizopus* spp. Los mecanismos de acción asociados al control de estos hongos incluyen la competencia, la antibiosis, el micoparasitismo, la acción de enzimas líticas y la inducción de mecanismos de defensa en la planta hospedante (González-Estrada et al., 2018).

La eficiencia de *Trichoderma* en el control de los hongos que causan la pudrición de la manzana puede mejorarse cuando se usa con diferentes cepas asociadas y/o cuando el agente de biocontrol se integra con otros métodos de control, como el uso de productos alternativos y el uso de técnicas de encapsulación en biopolímeros, como el uso de quitosano junto con métodos físicos (Batta, 2004).

La pudrición del pedúnculo de la manzana es causada por la infección por *B. cinerea* y ocurre a principios de la primavera en condiciones de baja temperatura, durante las primeras etapas de formación del fruto. En este caso, Tronmo; Raa (1977) demostraron que la aspersión de las flores de manzano con conidios de *T. pseudokoningii* antes de la inoculación artificial de *B. cinerea* redujo la pudrición del manzano. Los estudios realizados con inoculación natural, sin embargo, no confirmaron los resultados y los autores atribuyeron el fracaso a la baja tolerancia del antagonista a la baja temperatura, condición frecuente durante la infección durante el período de floración de las plantas de manzana. Según los autores, el bajo control estaría causado porque el aislado de *T. pseudokoningii* no se desarrolla a temperaturas inferiores a 9 °C y la temperatura mínima de los ciclos de evaluación fue de 7,7 °C, condición desfavorable para el agente de control biológico pero favorable para la aparición de infección causada por *B. cinerea*.

Otros resultados sobre el control eficiente de *B. cinerea* en manzanas, tanto en campo como en cámara fría, fueron obtenidos por Tronmo; Dennis (1977) quienes hicieron aspersiones

con aislamientos de *T. harzianum* y *T. viride* y con inóculo natural en plantas de manzana en floración. En este caso, el control biológico mostró una eficacia de control similar a la obtenida por el fungicida diclofluanida, comúnmente utilizado por los cultivadores de manzana. Sin embargo, en otras regiones productoras este tipo de control tuvo eficiencia variable o no hubo control.

En reportes posteriores con el fin de controlar biológicamente *B. cinerea* en manzano, Tronmo; Ystaas (1980) utilizaron un aislado de *Trichoderma harzianum* tolerante a bajas temperaturas, lo que permitió la colonización de flores y frutos y favoreció la competencia con el patógeno.

Otro enfoque de control fue la aplicación de un aislado de *T. harzianum* resistente a fungicidas junto con el fungicida. El fungicida vinclozolin fue aplicado sobre plantas de manzano en una dosis menor con el fin de obtener una reducción significativa de los daños causados por esta enfermedad. El mecanismo de acción del agente de biocontrol fue la competencia por el sitio de colonización (Tronsmo, 1991).

La utilización de diferentes aislados de *Trichoderma* para el control de los principales fitopatógenos asociados a las pudriciones del manzano en postcosecha fue evaluado y se obtuvieron resultados prometedores. Durante el almacenamiento, transporte y comercialización de los frutos de manzana, los patógenos que causan mayores daños son *Penicillium expansum*, agente causal de la pudrición azul; *Botrytis cinerea* agente causal del moho gris y *Neofabraea* sp. agente causal de la pudrición de ojo de buey (Wilson; Ogawa, 1979). El hongo *P. expansum* puede crecer, esporular e infectar el fruto en cámaras frías (0 °C) sin luz y sólo puede iniciar la infección a través de heridas preexistentes o por tejidos dañados. Los dos últimos patógenos pueden infectar manzanas en el campo con o sin heridas, presentar infección latente y la pudrición de la fruta puede ocurrir en cámaras de frío. Estos dos patógenos no esporulan en condiciones de refrigeración en manzanas. Sin embargo, *B. cinerea* también puede infectar otros frutos cercanos al colonizado inicialmente, formando a veces 'nidos' de manzanas con moho gris.

Batta (2004) reportó estudios relacionados con el control de pudriciones de frutos de manzanas tratadas después de la cosecha con *Trichoderma*. Los ensayos tuvieron como objetivo el control de *B. cinerea* en manzanas del cultivar Golden Delicious y para ello desarrollaron y evaluaron una formulación de emulsión oleosa (agua/aceite) con conidios de *Trichoderma harzianum*, cepa Th2, tratando el fruto con o sin lesiones. Los resultados mostraron que, en la evaluación realizada a una temperatura de 20 °C, el producto redujo de manera preventiva la severidad del moho gris y este efecto se mantuvo durante 16 días. El antagonista no presentó un efecto curativo, pero ejerció un efecto de erradicación al disminuir la producción de conidios del patógeno en las lesiones.

El control preventivo de *Penicillium expansum* en manzanas fue evaluado por Quaglia et al. (2011), quienes compararon aislados de diferentes especies de *Trichoderma*. Los resultados

del control de moho azul fueron 70,6, 70,6, 71,8 y 59,3% para los aislados *T. atroviride* cepa P1, *T. harzianum* cepa T22, *T. harzianum* cepa T67, *T. reesei* cepa T34 y *Trichoderma* spp. cepa 8009, respectivamente. Demostrando que existe variación en la efectividad del control de *P. expansum* entre los aislados evaluados.

En la pudrición de ojo de buey, el control de patógenos en postcosecha demostró ser efectivo solo cuando se usaron aislados antagonistas de *T. harzianum* tolerantes al frío y en fumigaciones de manzanos antes de la cosecha. Se encontró que la reducción obtenida con este tratamiento fue de 75 a 91% de este tipo de pudrición en un cultivar altamente susceptible (Hjeljord; Tronmo, 1998).

El antagonismo de *T. virens* frente a *P. expansum* en manzanas fue eficaz y redujo la severidad de la pudrición del moho azul en un 58,4%. En este caso, se demostró que los antagonistas incrementaron la actividad enzimática del peróxido, la catalasa y la  $\beta$ -1,3-glucanasa, además de incrementar la concentración de compuestos fenólicos. En esta situación, el máximo de este efecto se verificó después de 4 a 6 días. Estos resultados mostraron que un importante mecanismo de acción involucrado en el control de *P. expansum* por los aislamientos de *T. virens* es la activación de los mecanismos de defensa del fruto (Bordbar et al., 2010).

Así, los estudios realizados para el control de patógenos de manzana demuestran que, para lograr un control exitoso, los antagonistas deben ser capaces de establecerse y actuar en las mismas condiciones que la infección provocada por los patógenos y que los mecanismos de acción asociados al control de patógenos en el fruto puede ser por competencia, antibiosis e inducción de los mecanismos de defensa.

### **Colonización de heridas en plantas de manzana durante el procedimiento de poda de ramas o tronco**

Se ha explorado en cultivos perennes la posibilidad de que los aislamientos de *Trichoderma* puedan precolonizar heridas provocadas por la poda de las plantas, con el fin de evitar la colonización por patógenos.

Uno de los principales objetivos de los estudios para el control de patógenos de heridas en frutales y otras plantas ha sido el basidiomiceto *Chondrostereum purpureum* asociado al plateado de los frutales, cuyo principal síntoma es la colonización y obstrucción del sistema vascular de las plantas.

*Trichoderma viride* formulado en forma de pasta para la protección de las heridas de la poda, fue efectivo para el control de *C. purpureum* en ciruelos, sin embargo, no fue eficiente en el control del plateado en manzanos y melocotoneros (Spiers; Brewster, 1997).

También se hizo una evaluación del efecto de la protección de los cortes de poda mediante la colonización con *Trichoderma* en manzano para el control de *Neonectria ditissima*,

patógeno responsable del cancro europeo de las pomáceas. En este cultivo, Corke; Hunter (1979) tuvieron éxito en el control del patógeno con aislados de *Trichoderma* y reportaron que no hubo coincidencia en la selección de aislados *in vitro* y en plantas de manzano.

Los resultados presentados sugieren que, para lograr la protección de las heridas de las plantas debe haber una adaptación de los aislados antagonistas a cada especie de la planta hospedantes y en este sentido, la selección *in vivo* es una herramienta necesaria.

### **Pudrición de la raíz del manzano**

La pudrición de la raíz del manzano está presente en todas las regiones productoras de manzana y, en Brasil, en una encuesta realizada en Rio Grande do Sul, se demostró que la pérdida puede variar desde 0,5 al 12% de las plantas por año (Valdebenito -Sanhuesa et al., 1988). Las principales pudriciones incluyen la pudrición del cuello causada principalmente por *Phytophthora cactorum* y la pudrición blanca de la raíz causada por *Rosellinia necatrix*. Los patógenos pueden infectar plántulas en viveros o huertos y el control químico es difícil y de eficiencia variable (Sharma et al., 2014). Las áreas donde se eliminaron las plantas infectadas rara vez pueden ser ocupada nuevamente.

### **Pudrición blanca de la raíz**

El patógeno puede infectar a más de 170 especies de plantas y está ampliamente distribuido en el mundo. Las regiones con suelos ácidos y alto porcentaje de materia orgánica favorecen el desarrollo de la enfermedad (Agarwala; Sharma, 1971; Sousa et al., 1995). Para reducir los daños causados por esta enfermedad se recomendó el uso de bromuro de metilo para controlar el patógeno en el suelo infectado para permitir la resiembra y el uso de bencimidazoles para la protección de las plantas. Debido a los riesgos que tiene el uso de este producto para el hombre y el medio ambiente, su uso ya ha sido prohibido en varios países.

Entre las alternativas de control del patógeno en el suelo se realizaron estudios con cepas antagonistas de *T. harzianum* asociadas con la solarización del suelo durante 3 meses en Israel (Sztejnberg et al., 1987) y durante dos años en Portugal (Sousa et al., 1993).

La obtención de mutantes de *T. viride* resistentes a benomil en Brasil, así como su uso en asociación con bentonita de sodio en invernadero para uso en el control de *R. necatrix* han sido reportados como alternativas promisorias al bromuro de metilo para el control de esta enfermedad (Valdebenito Sanhuesa et al., 2002).

La dificultad de control del patógeno en el suelo sugiere la integración del control químico y biológico, así como con otros métodos de control.

## Putridión del cuello

Los síntomas pueden localizarse en la región del cuello, en la inserción de las raíces principales, en la raíz pivotante y a veces en el extremo distal de las raíces. En las pudriciones iniciales se observan tejidos de color amarillento a marrón rojizo, ubicados en la corteza de la raíz. Las lesiones avanzadas son de marrón oscuro a rojizas y húmedas. En la región afectada, los tejidos se desprenden fácilmente con la mano y la epidermis se separa de los tejidos internos. La madera de las raíces podridas permanece dura y oscura.

La enfermedad es causada por especies de *Phytophthora* y la más frecuente es *P. cactorum*. El patógeno sobrevive como oosporas o micelio en los tejidos enfermos o como oosporas en el suelo.

El control se logra desinfectando el suelo después de arrancar las plantas enfermas y colonizando el suelo con *Trichoderma*. En áreas con alta incidencia de la enfermedad, se debe promover el tratamiento de plantas cercanas a las plantas muertas con fungicidas sistémicos específicos, como fosetyl Al y metalaxyl. Estos fungicidas solo son efectivos cuando se usan al inicio de la aparición de los síntomas. Existe la necesidad de utilizar el manejo del control biológico integrado a otros métodos de manejo de esta enfermedad, que pueden reducir las pérdidas y lograr una eficiencia parcial de las prácticas recomendadas. Se evaluaron las bacterias y los hongos en cuanto a efectos antagónicos para *P. cactorum*.

Los trabajos de selección de cepas antagónicas a *P. cactorum* fueron reportados en la década de los 80 e inicialmente se asociaron a evaluaciones de cepas de diferentes especies de *Trichoderma* tanto *in vitro* como en invernadero.

Así, Orlikowski; Schmidle (1985) reportaron el biocontrol exitoso de *P. cactorum* con aislados de *Trichoderma*.

Smith et al. (1990) propusieron un método para seleccionar antagonistas a *P. cactorum* en plántulas de manzano. Las plántulas fueron cultivadas en un sustrato infestado con el patógeno y se trataron con cada antagonista candidato. Los aislados seleccionados para el trabajo fueron aquellos capaces de crecer a 10 °C al menos un 20% más que los demás e incluyeron a *T. virens*, *T. harzianum*, *T. koniingi*, *T. hamatum* y *T. viride*. Se hicieron evaluaciones a los 14 días con intervalos de 72 horas de riego. Luego de este periodo se evaluó el peso y las lesiones presentes en el hipocótilo y raíces. Hubo un aumento de peso en comparación con las plántulas inoculadas y el control de patógenos con once aislamientos que incluyeron a *T. virens*.

Roiger; Jeffers (1991) obtuvieron aislamientos de *Trichoderma* de varias regiones, quienes seleccionaron 223 aislamientos para la detección de cepas antagonistas en plántulas de manzano e incorporaron los aislamientos en forma de suspensión de conidios o desarrollados en sustrato orgánico. Los resultados mostraron que seis aislados utilizados en fermentación semisólida y cinco aislados utilizados como suspensión de conidios aumentaron

la supervivencia de las plántulas. Entre los aislados evaluados, resaltaron los aislados TW.055 de *T. virens* con 30 días de supervivencia, los aislados TW.105 y TW.189 de *T. koningii* con 24 días de supervivencia y el TW.138 de *T. harzianum* con 22 días, mientras que el testigo sobrevivió 19 días.

En Brasil, el objetivo del control de *P. cactorum* con *Trichoderma* fue la selección de antagonistas *in vitro* para caracterizar la tasa de crecimiento, la esporulación y la detección de micoparasitismo y antibiosis. A continuación, se hizo una selección de los aislamientos con potencial antagónico y de control de *P. cactorum* en macetas con suelo inoculado con el patógeno y con cada antagonista candidato. Luego de comparar los métodos para la producción en masa, se decidió utilizar semillas de sorgo esterilizadas y colonizadas por el antagonista *T. viride* para asegurar la colonización del suelo en los días posteriores a la siembra de las plántulas (Valdebenito-Sanhueza, 1986). Luego se evaluaron los ensayos en suelo con infestación natural y artificial. La evaluación de la supervivencia o no del patógeno se determinó utilizando plántulas de manzano. Se distribuyeron paquetes de polietileno con las semillas de sorgo inoculadas a los productores para las nuevas siembras (Valdebenito-Sanhueza, 1987).

### Consideraciones finales

*Trichoderma* tiene muchas ventajas como agente de control biológico ya que tiene un crecimiento rápido, gran producción de conidios y gran cantidad de enzimas que se inducen en presencia de fitopatógenos, además es un micoparásito e incluso en el suelo tiene ventajas con relación a los patógenos, en el proceso de competencia por nutrientes, interfiriendo así negativamente en el establecimiento y multiplicación de patógenos (González-Estrada et al., 2019c). Otra ventaja de este género, al ser un simbiote de plantas, es que tiene la característica de ser un bioestimulante, pudiendo promover el crecimiento de las plantas y estimular sus defensas a través de la regulación hormonal y la producción de muchos metabolitos secundarios (Guzmán-Guzmán et al., 2019).

*Trichoderma* es un agente de biocontrol con varios beneficios técnicos y ecológicamente correctos para su aplicación en el manejo de enfermedades en diferentes cultivos (González-Estrada et al., 2018). En los últimos tiempos se ha demostrado con mayor eficacia el potencial del uso de *Trichoderma*, superando así los problemas de formulación o el desconocimiento técnico de su potencial por parte de los agricultores.



## Referencias

- AGARWALA, R. K.; SHARMA, V. C. Epidemiology and control of root rot disease of apple trees caused by *Dematophora necatrix*. **Indian National Science Academy Proceeding**, v. 37, p. 285-290, 1971.
- BATTA, Y.A. Effect of treatment with *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in invert emulsion on postharvest decay of apple blue mold. **International Journal of Food Microbiology**, n. 96, p. 281-288, 2004.
- BORDBAR, F. T.; ETEBARIAN, H. R.; SAHEBANI, N.; ROHANI, H. Control of postharvest decay of apple fruit with *Trichoderma virens* isolates and induction of defense responses. **Journal of Plant Protection Research**, v. 2, n. 50, p. 146-152, 2010.
- CORKE, A. T.; HUNTER, T. Biocontrol of *Nectria galligena* infection of pruning wounds on apple shoots. **J. Hort. Sci.**, n. 54, p. 47-55, 1979.
- GONZÁLEZ-ESTRADA, R.; BLANCAS-BENÍTEZ, F.; MONTAÑO-LEYVA, B.; MORENO-HERNÁNDEZ, C.; ROMERO-ISLAS, L. C.; ROMERO-ISLAS, J.; AVILA-PEÑA, R.; RAMOS-GUERRERO, A.; FONSECA-CANTABRANA, A.; GUTIERREZ-MARTINEZ, P. A. Review Study on the Postharvest Decay Control of Fruit by Trichoderma. In: SHAH, M. M. (Ed.). **Trichoderma: The Most Widely Used Fungicide**. [S. l.]: IntechOpen, c2019. DOI: 10.5772/intechopen.82784. Disponible en: <<https://www.intechopen.com/online-first/a-review-study-on-the-postharvest-decay-control-of-fruit-by-trichoderma>>. Acceso el: 02 sept. 2019.
- GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M. D.; OLMEDO-MONFIN, V.; HERRERA, E. *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. **Phytopathology**, v. 109, p. 6-16, 2019.
- HJELJORD, L.; TRONSMO, A. Trichoderma and Gliocladium in biological control: An overview. In: HARMAN, G. E.; KUBICEK, C. P. **Trichoderma and Gliocladium**: volume 2: Enzymes, Biological Control and commercial applications. [S. l.]: CRC Press, 1998. p. 131-151.
- ORLIKOWSKI, L. B.; SCHMIDLE, A. On the biological control of *Phytophthora cactorum* with *Trichoderma viride*. **Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes**, v. 37, p. 78-79, 1985.
- QUAGLIA, M.; EDERLI, L.; PASQUALINI, S.; ZAZZERINI, A. Biological control agents and chemical inducers of resistance for postharvest control of *Penicillium expansum* Link. on apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, n. 59, p. 307-315, 2011.
- ROIGER, D. J.; JEFFERS, S. N. Evaluation of *Trichoderma* spp. for Biological Control of *Phytophthora* Crown and Root Rot of Apple Seedlings. **Phytopathology**, v. 81, p. 910-917, 1991.
- SHARMA, I. M.; NEGI, H. S.; SHARMA, S. Integrated Management of collar rot in apple caused by *Phytophthora cactorum*. **Indian Phytopathology**, v. 67, n. 2, p. 168-173, 2014.
- SOUZA, A. J. T.; MELO, E. M. P. F.; FERRAZ, J. F. P. Efeito da solarização na supressão de *Rosellinia necatrix* num solo naturalmente infestado. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 16, p. 262-265, 1993.
- SOUZA, A. J. T.; GUILLAUMIN, J. J.; SHARPLES, G. P.; WHALLEY, A. J. S. *Rosellinia necatrix* and white root rot of fruit trees and other plants in Portugal and nearby regions. **Mycologist**, v. 9, p. 31-33, 1995.
- SMITH, V. L.; WILCOX, W. F.; HARMAN, G. E. Potential for Biological Control of *Phytophthora* Root and Crown Rots of Apple by *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. **Phytopathology**, v. 80, p. 880-885, 1990.
- SPIERS, A. G.; BREWSTER, D. T. Evaluation of chemical and biological treatments for control of *Chondrostereum purpureum* infection of pruning wounds in willows, apples, and peaches. **New Zealand of Crop and Horticultural Science**, v. 25, p. 19-31, 1997.
- SZTEJNBERG, A.; FREEMAN, S.; CHET, I.; KATAN, J. Control of *Rosellinia necatrix* in soil in apple orchard by solarization and *Trichoderma harzianum*. **Plant disease**, v. 71, p. 365-369, 1987.
- TRONSMO, A.; DENNIS, C. The use of *Trichoderma* species to control strawberry fruit rots. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 83, p. 449-455, 1977.
- TRONSMO, A.; RAA, J. Antagonistic action of *Trichoderma pseudokoningii* against the apple pathogen *Botrytis cinerea*. **Journal of Phytopathology**, v. 89, p. 216-220, 1977.

- TRONSMO, A. Biological and integrated controls of *Botrytis cinerea* on apple with *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**, v. 6, n. 1, p. 59-62, 1991.
- TRONSMO, A.; YSTAAS, J. Biological control of *Botrytis cinerea* on apple. **Plant Disease**, v. 64, p. 1009-1011, 1980.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Uso de *Trichoderma* no solo de replantio de macieiras afetadas por podridão de raízes. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 1, 1986, Piracicaba. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1986, p. 77.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Uso de formaldeído e *Trichoderma* para prevenir a recolonização do solo por *Phytophthora cactorum* em pomares de macieiras. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 2, 1987, Piracicaba. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1987, p. 55.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; PERAZZOLO, A.; ALIPRANDINI, H. Losses due to root rots in apple orchards in Rio Grande do Sul, Brazil. **Acta Horticulturae**, v. 232, p. 213-218, 1988.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; BERNARDI, J.; HOFFMANN, A.; NACHTIGALL, G. R.; GHINI, R. Manejo integrado de *Rosellinia necatrix* em macieiras. In: ENFRUTE -ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 5, 2002, Fraiburgo. **Anais...** [S. l.: EPAGRI, 2002, p. 179-184.
- WILSON, E. E.; OGAWA, J. M. **Fungal, bacterial and certain non parasitic diseases of fruit and nut in California**. [S. l.]: UC, 1979, p. 18-19.



# Uso de *Trichoderma* en el cultivo de melón

*Christiana de Fátima Bruce da Silva*

*Laís Lacerda Brasil de Oliveira*

*Alan Bernard Oliveira de Sousa*

*Jonatas Rafael Lacerda Rebouças*

## Introducción

El melón (*Cucumis melo* L.) es una hortaliza cultivada en varios estados del territorio brasileño. Debido a las condiciones climáticas favorables, la región Nordeste destaca por ser la mayor productora de esta cucurbitácea en el país, alcanzando el 94% de la producción nacional (Melão, 2018). Sin embargo, el cultivo se ha enfrentado a algunos problemas, entre ellos la necesidad del uso de grandes cantidades de fertilizantes solubles y, además, los problemas por restricción de agua. A pesar de ser un cultivo de riego, la falta de lluvias en los últimos años en los estados del noreste ha provocado ciertos estreses abióticos, como la salinidad en los suelos cultivables.

El cultivo del melón de forma intensiva y sucesiva también ha favorecido la aparición de problemas fitosanitarios, que provocan daños y pérdidas económicas considerables al cultivo. Entre los obstáculos, las enfermedades causadas por patógenos de raíces han constituido un problema de difícil manejo, principalmente porque muchos patógenos producen estructuras de resistencia, como clamidosporas y esclerocios que pueden sobrevivir en el suelo por muchos años. Aunado a esto, las plantaciones de melón comúnmente ocurren sin rotación de áreas, favoreciendo así la viabilidad y efectividad del inóculo de los patógenos, durante varios ciclos del cultivo. Las enfermedades más prevalentes en los cultivos de melón son cancro del tallo (*Didymella bryoniae*), pudrición carbonosa del tallo (*Macrophomina phaseolina*), marchitez por sclerotium (*Sclerotium rolfsii*), marchitez por fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*), colapso de las cucurbitáceas (*Monosporascus cannonballus*) y pudrición de la raíz

por fusarium (*Fusarium solani*). Además de los ataques por nematodos, causadas por especies de *Meloidogyne* y *Pratylenchus*.

Actualmente, para el control de las enfermedades de la raíz del melón se utilizan algunos plaguicidas agrícolas altamente tóxicos para el medio ambiente (Agrofit, 2003c), muchos de los cuales no están registrados para el cultivo. Además, la aplicación indiscriminada de estos productos puede dar lugar a la selección de “cepas” resistentes del patógeno, además de contaminación del suelo, el agua y daños a los humanos. Por tanto, un manejo racional de las enfermedades requiere del uso de tácticas integradas y sostenibles de control que propendan a reducir el uso de plaguicidas. Una de las alternativas sería la adopción de hongos de control biológico y promotores del crecimiento, como los del género *Trichoderma*.

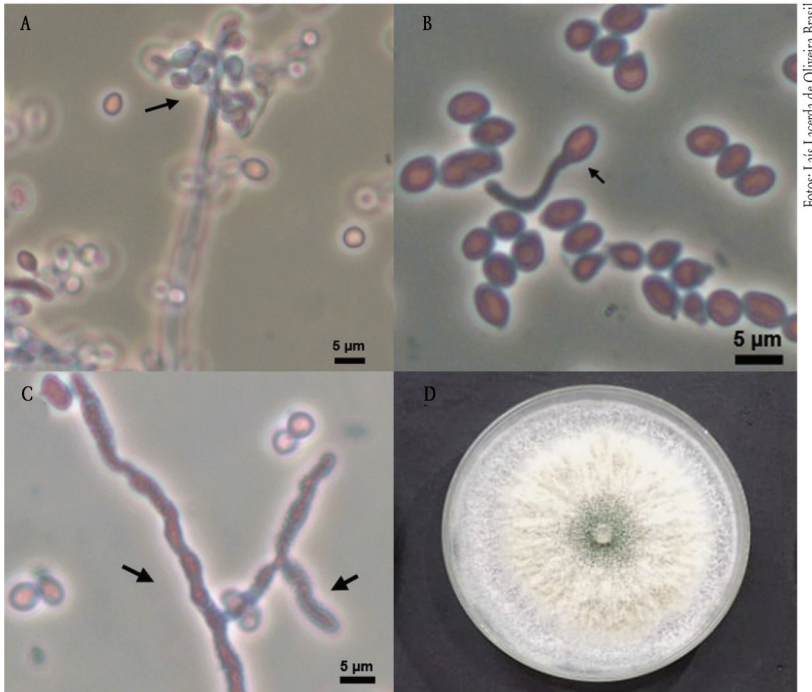
Por lo tanto, a continuación, se describen las principales especies de *Trichoderma* utilizadas para la promoción del crecimiento, tolerancia a condiciones de estrés abiótico, así como para el control biológico de enfermedades en plantas de melón. Además, también se discute sobre los productos a base de *Trichoderma* registrados para su uso en el cultivo de melón y los impactos del uso de estos microorganismos en los nuevos escenarios de la agricultura moderna.

### **Principales especies de *Trichoderma*, su ocurrencia y mecanismos de acción**

En la literatura existen reportes de más de 200 especies de *Trichoderma* involucradas tanto en la promoción del crecimiento de la planta como en el control biológico de patógenos en diferentes cultivos agrícolas (Atanasova et al., 2013). En el caso del melón, algunas especies merecen atención por ser utilizadas como bioestimulantes y/o biocontroladoras, tales como: *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* y *T. viride* (Bettiol; Morandi, 2009; Gava; Menezes, 2012; Boughalleb-M'hamdi et al., 2018), *T. virens*, *T. pseudokoningii* y *T. hamatum* (Zhang et al., 1999; Martínez-Medina et al., 2014), *T. polysporum* (Gava; Pinto, 2016), *T. koningii* (Gava; Menezes, 2012), *T. erinaceum* (Boughalleb-M'hamdi et al., 2018) y *T. ganense* (Martínez-Medina et al., 2014). Entre los aislados de *Trichoderma* también es importante considerar que existe variabilidad en relación a la actividad de biocontrol, espectro de acción contra hospedantes, propiedades fisiológicas y bioquímicas, así como adaptación ecológica y ambiental (Silva; Mello, 2007).

El hongo *Trichoderma* es un microorganismo saprofito ampliamente distribuido en varios nichos ecológicos. Ha sido encontrado sobreviviendo y colonizando diferentes ecosistemas, como suelo, materia orgánica descompuesta y en la rizosfera de las plantas (Papavizas, 1985; Baugh et al., 2007). Se ha observado que *Trichoderma* tiene una gran capacidad para competir en la rizosfera, colonizando rápidamente los sustratos con los cuales está asociado. Es un hongo que presenta un crecimiento rápido y profuso, produciendo estructuras asexuales: conidios, conidióforos en fálides (Figura 1) y clamidosporas. Con las clamidosporas, el hongo puede

sobrevivir durante largos períodos en el suelo. Las estructuras sexuales son las ascosporas, que se encuentran contenidas en los peritecios (Papavizas, 1985; Costa et al., 2009).



**Figura 1.** Ciclo asexual del hongo *Trichoderma*. Imágenes obtenidas con microscopio óptico (40x). (A) Conidióforos con fiáldes y conidios; (B) Conidios en germinación; (C) Hifas. (D) Crecimiento micelial de *Trichoderma* en una placa de Petri que contiene medio de agar papa dextrosa (PDA).

Su desarrollo en el sistema suelo/planta puede estar influenciado por varios factores, entre los que destacan las características fisicoquímicas del suelo, el contenido de sales y materia orgánica, así como la presencia de otros microorganismos. También se sabe que el hongo *Trichoderma* solubiliza minerales, poniéndolos a disposición de las plantas (Papavizas, 1985; Michereff et al., 2005; Kubicek et al., 2008; Bettiol; Morandi, 2009).

La promoción del crecimiento de las plantas y el control biológico de patógenos por *Trichoderma* son logrados a través de varios mecanismos que son importantes para su competitividad rizosférica, tales como: micoparasitismo (Papavizas, 1985; Atanasova et al., 2013), inducción de la resistencia de plantas (Harman et al., 2004), producción de antibióticos, sideróforos, así como competencia por nutrientes y espacio (Papavizas, 1985;

Benítez et al., 2004; Bettioli; Morandi, 2009; Lee et al., 2016). En este contexto, se encontró en un estudio que el principal mecanismo de acción de *T. harzianum* involucrado en la reducción de la germinación de clamidosporas de *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, el agente causal de la marchitez del melón, fue la competencia por nutrientes (Sivan; Chet, 1989). Sin embargo, otros mecanismos pueden estar relacionados con la capacidad para promover el crecimiento y el control biológico de las especies de *Trichoderma*. Por ejemplo, la producción de metabolitos volátiles puede tener una acción directa sobre la germinación de conidios del patógeno e indirecta mediante la estimulación de las defensas de las plantas (Benítez et al., 2004; López-Bucio et al., 2015; Lee et al., 2016). Los aislados de *Trichoderma* también pueden producir diferentes enzimas, principalmente las relacionadas con la degradación de la pared celular de los patógenos y también metabolitos secundarios (Benitez et al., 2004; Harman et al., 2004; Vinale et al., 2008) involucrados en la promoción del crecimiento y el control biológico.

A continuación, se detallan los dos principales mecanismos de acción promovidos por las especies de *Trichoderma*: la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de los agentes patógenos que afectan al cultivo del melón.

### **Promoción del crecimiento en melón por efecto de *Trichoderma***

Los hongos del género *Trichoderma* presentan mecanismos dirigidos tanto al control biológico de enfermedades como a la promoción del crecimiento de la planta (Bettioli; Morandi, 2009). En el caso de la promoción del crecimiento, *Trichoderma* es considerado un hongo promotor del crecimiento de plantas, un microorganismo que naturalmente presenta una característica bioestimulante (Machado et al., 2012; López-Búcio et al., 2015). Esta acción bioestimulante favorece el desarrollo de las plantas y la tolerancia al estrés tanto biótico como abiótico, traduciéndose en incrementos en los rendimientos de los cultivos (Bettioli; Morandi, 2009).

Las diferentes especies bioestimulantes de *Trichoderma* se encuentran ampliamente distribuidas en el suelo, principalmente sobreviviendo de forma saprofita. Es un hongo con alto nivel de competencia en la rizosfera, capaz de colonizar eficientemente las raíces y promover el crecimiento de las plantas con las que se asocia (Baugh et al., 2007). En la rizosfera son atraídos por los exudados radicales, donde se produce el reconocimiento, adhesión, penetración y colonización. Las plantas colonizadas reaccionan sintetizando y acumulando compuestos como: fitoalexinas, flavonoides, fenoles, terpenos y otros con acción antimicrobiana (Harman et al., 2004). En esta asociación con las raíces, el hongo produce enzimas, hormonas (ácido indolacético, ácido abscísico, citoquininas y ácido giberélico) que aumentan la eficiencia y disponibilidad de nutrientes para las plantas (Machado et al., 2012).

Para la promoción del crecimiento de las plantas como el melón, *Trichoderma* tiene diferentes mecanismos de acción. Uno de estos mecanismos, muy importantes para el desarrollo de las plantas, es la solubilización del fosfato. El fósforo es uno de los elementos minerales más escasos en el suelo, además de ser un insumo agrícola de alto costo (López-Búcio et al., 2015). Por ejemplo, las plantas de melón, tras la suplementación con una formulación a base de *T. harzianum*, mostraron aumentos en el contenido de fósforo. Mientras tanto, hubo disminuciones en nutrientes como nitrógeno y potasio, pero esto no afectó el desarrollo de los frutos de melón. Estas reducciones pueden estar relacionadas con la competencia de las plantas con el microorganismo por los macronutrientes del suelo. Como resultado del uso de este microorganismo bioestimulante se observó reducción del período de crecimiento de las plántulas en la fase de semillero y aumento de la capacidad productiva (Martínez-Medina et al., 2009). Otras especies de *Trichoderma* también se destacan como promisorias en el desarrollo de esta especie de cucurbitácea. Por ejemplo, plantas de melón que fueron inoculadas con *T. viride* y *T. erinaceum* mostraron incrementos en las variables relacionadas con la promoción del crecimiento, como longitud de raíz, peso fresco y seco. Estas plantas mostraron pleno desarrollo, incluso en presencia de los patógenos *F. solani* f. sp. *cucurbitae* y *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Boughalleb-M'hamdi et al., 2018).

Otra alternativa sustentable para el uso de *Trichoderma* como promotor de crecimiento en el cultivo del melón es la suplementación de suelos con compuestos de origen vegetal asociados con este microorganismo. Es interesante la asociación de especies de *Trichoderma* con estos materiales, ya que el hongo actúa como bioestimulante para las plantas y biocontrolador de patógenos. Por ejemplo, la adición de compuestos cítricos junto con *T. harzianum* tuvo un efecto sobre la respuesta de defensa de plantas de melón en condiciones de invernadero. Se observó una acción bioestimulante, así como un aumento de varias enzimas involucradas en la inducción de resistencia, como la peroxidasa. Además, se observaron ganancias en el peso fresco de las plantas después de la fase de aclimatación (Bernal-Vicente et al., 2015). En otro estudio, la suplementación con compost de cítricos redujo la intensidad de la marchitez por fusarium, causado por *F. oxysporum*, f. sp. *melonis* y también promovió el crecimiento de plántulas de melón (Bernal-Vicente et al., 2008). La microbiolización de semillas con *T. harzianum*, asociada a la suplementación con *Brassica nigra* también favoreció el crecimiento de plántulas de melón. La combinación de esta aplicación aumentó la longitud de las raíces de las plantas en 20%. Además, se observó mayor disponibilidad del nitrógeno para las plantas, debido a la acción del microorganismo (Galletti et al., 2015).

El hongo *Trichoderma* también puede interactuar con otros microorganismos, y así promover el crecimiento de la planta y el biocontrol de patógenos en melón. Por ejemplo, la asociación entre hongos micorrízicos arbusculares y *T. harzianum* reveló un aumento



significativo de varias hormonas relacionadas con la promoción del crecimiento, como el ácido indolacético, el ácido salicílico, el ácido jasmónico y el ácido abscísico. Adicionalmente, también hubo incrementos en el peso fresco de la planta (20%), al compararlas con las plantas del tratamiento testigo (Martínez-Medina et al., 2011a). Sin embargo, la interacción entre *Trichoderma* y hongos micorrízicos puede ser perjudicial tanto para la planta como para uno de los microorganismos bioestimulantes. En un estudio se observó que la inoculación conjunta del hongo micorrízico *Glomus intraradices* con *T. harzianum* provocó efectos deletéreos en plantas de melón. Las plantas no crecieron y hubo efectos negativos en la micorrización (Santander; Olave, 2014). Lo que se ha observado es que el hongo *T. harzianum* micoparasita las hifas y esporas de *Glomus* y también puede secretar metabolitos tóxicos al hongo micorrízico (Rousseau, 1996).

En general, la aplicación de bioestimulantes a base de especies de *Trichoderma* ha sido una estrategia interesante dentro de un enfoque de manejo integrado y sustentable, reduciendo los niveles de fertilización química y proporcionando aumentos en la productividad en el cultivo del melón (figura 2).

Foto: Jonatas Rafael | Lacerda Rebouças



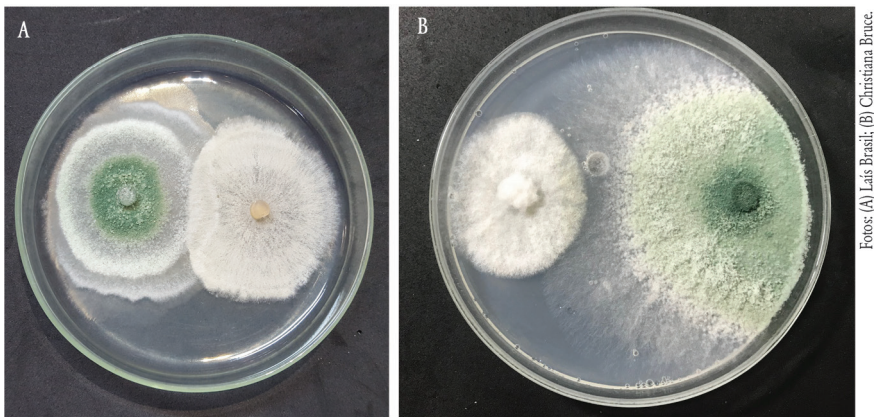
**Figura 2.** Microbiolización de semillas e incorporación al suelo de la formulación a base de *Trichoderma* en cultivos de melón de la región Noreste.

### **Manejo de enfermedades en el cultivo de melón mediante el uso de *Trichoderma***

El cultivo de melón de forma intensiva y sucesiva en las regiones productoras ha provocado un aumento de la severidad de las enfermedades, especialmente de las raíces. Adicionalmente, la aplicación de prácticas inadecuadas de manejo del riego y la falta de remoción de las fuentes de inóculo también han contribuido al aumento de los problemas fitosanitarios. Así, para el

manejo racional de las enfermedades de las raíces, mucho se ha discutido sobre la adopción de prácticas sustentables que promuevan el efecto de supresión de estas enfermedades en el suelo. Además, el uso de plaguicidas para el manejo de este grupo de enfermedades ha mostrado baja eficiencia (Gava; Menezes, 2012; Gava; Pinto, 2016). En el caso del cultivo de melón, son pocos los productos registrados para el control de estas enfermedades (Agrofit, 2003c). Por tanto, una de las alternativas para el manejo sostenible e integrado de enfermedades de la raíz sería el uso del hongo biocontrolador *Trichoderma*, asociado también a otras prácticas culturales en el cultivo del melón (Michereff et al., 2005; Gava; Menezes, 2012).

Las enfermedades de las raíces han limitado el cultivo de esta cucurbitácea en las áreas productoras del Nordeste de Brasil (Gava; Menezes, 2012). Algunos estudios han demostrado que el uso de diferentes especies de *Trichoderma* para el control de patógenos de la raíz en melón ya es una realidad creciente (Figura 3) (Zhang et al., 1999; Suárez-Estrella et al., 2007; Gava; Menezes, 2012). Estos microorganismos pueden ser utilizados en campo, con aplicaciones tanto en el suelo, como en sustratos, semillas, material de propagación o en la parte aérea de las plantas, así como en cultivos protegidos (Ubalua; Otti, 2007; Lucon, 2014). Los principales mecanismos involucrados en el control de patógenos incluyen la producción de enzimas, como quitinasas, proteasas y glucanasas (Harman, 2006; Nawrocka et al., 2018); inducción de la resistencia en plantas al ataque de patógenos (Martinez et al., 2001; Nawrocka et al., 2018), producción de compuestos volátiles y no volátiles (López-Bucio et al., 2015); competencia por nutrientes y nichos de colonización (Benitez et al., 2004; Baugh; Escobar, 2007); y modificación de la rizosfera, como cambiar el pH del suelo, evitando que sean sintetizados muchos factores de patogenicidad de los agentes patógenos (Machado et al., 2012).



Fotos: (A) Laís Brasil; (B) Christiana Bruce.

**Figura 3.** Inhibición del crecimiento micelial por parte de *Trichoderma harzianum* frente a patógenos del melón (*Cucumis melo*). (A) Aislado de *T. harzianum* (izquierda) contra *Rhizoctonia solani* (derecha),

agente causal de la marchitez en plántulas; (B) Aislamiento de *T. harzianum* (derecha) contra *Fusarium pallidoroseum* (izquierda), el agente causal de la pudrición del fruto del melón.

En cultivos experimentales de melón en el municipio de Bebedouro, Estado de Pernambuco, ubicado en el Valle de São Francisco, la microbiolización de semillas de melón con las especies *T. koningii* y *T. polysporum* permitió reducir la incidencia de enfermedades, como el *damping off* y la marchitez. Los aislados de *Trichoderma* fueron capaces de colonizar efectivamente la rizosfera del melón (Gava; Menezes, 2012). En otro estudio, la inoculación de *T. harzianum* en plántulas redujo en un 85% la incidencia de la marchitez del melón, causada por *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Suárez-Estrella et al., 2007). Para patógenos como *Monosporascus cannonballus*, la microbiolización de semillas con *T. virens* en semillero permitió una reducción considerable de la colonización de patógenos en plántulas (Zhang et al., 1999). Mientras que, para *M. phaseolina*, la inoculación preventiva con los biocontroladores *T. harzianum* y *T. viride* proporcionó una menor tasa de severidad de la enfermedad en comparación con las plantas no inoculadas (Boughalleb-M'hamdi et al., 2018). La especie *T. harzianum* también redujo el porcentaje de infección por *F. solani* (10%), *Pythium aphanidermatum* (5%) y *R. solani* (5%) en plantas de melón cantaloupe (El-Kolaly; Abdel-Sattar, 2013).

Con respecto a los nematodos, el antagonista *T. longibrachiatum*, inoculado mediante el agua de riego, proporcionó un excelente control de *M. incognita*, *M. hapla*, *M. arenaria* y *M. javanica*, los cuales con frecuencia están presentes en las zonas productoras. Además del uso en el manejo de patógenos del suelo, varias especies de *Trichoderma* también han sido utilizadas para el control de enfermedades de la parte aérea, como el oídio (*Podosphaera xanthii*). El uso de *Trichoderma* spp. aplicados de forma preventiva redujeron la severidad del oídio, siendo además recomendados para el manejo integrado de esta enfermedad de importancia para el cultivo del melón (Costa et al., 2003; Tavares et al., 2004).

DE esta forma, para un manejo sostenible e integrado, también es interesante asociar los hongos biocontroladores con medidas de control cultural, como la incorporación de materia orgánica al suelo. Este material proporciona una mejora en las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo, además de permitir un mejor establecimiento de los antagonistas en la rizosfera de las plantas. Por ejemplo, la incorporación al suelo de *Crotalaria juncea* y *T. harzianum* redujo la supervivencia del patógeno *F. solani*. Fue posible observar aumentos en el peso fresco y seco de los brotes de melón (Fonsêca Neto et al., 2016). La interacción de semillas microbiolizadas con *T. polysporum* y la fertirrigación con compost líquido incrementó el control de la marchitez por fusarium (32,2%), además de proporcionar aumentos en la producción de frutos de melón (27%) (Gava; Pinto, 2016). Otra asociación interesante

para reducir las enfermedades del melón es el uso de especies de *Trichoderma* con hongos micorrízicos arbusculares. La inoculación de plantas de melón con *T. harzianum* y *Glomus intraradices* promovió la reducción en la incidencia de marchitez del melón (Martínez-Medina et al., 2011a, b).

### **El cambio climático y su impacto sobre el uso de *Trichoderma***

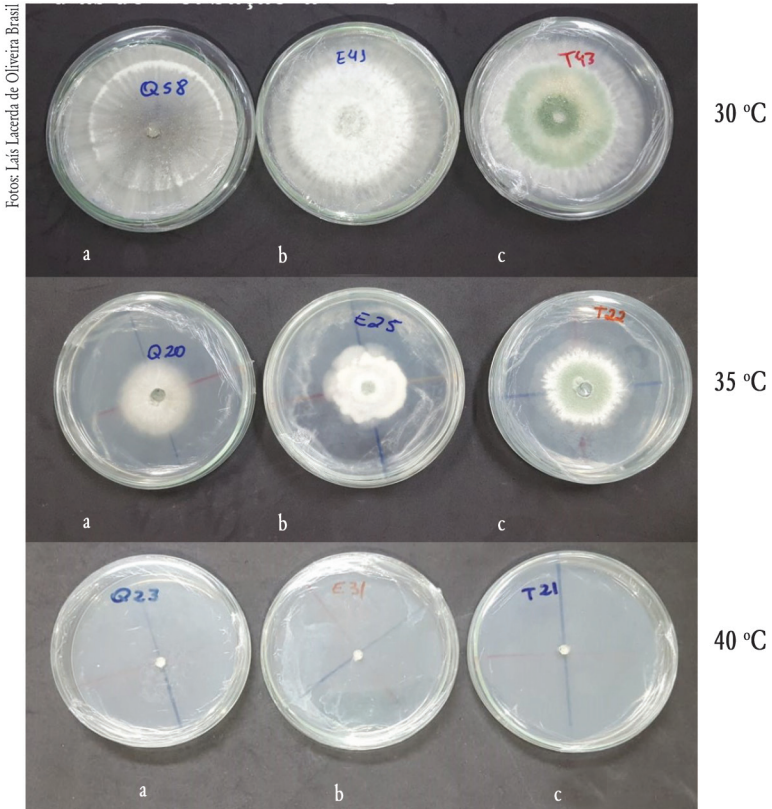
Con el crecimiento continuo de las emisiones de gases de efecto invernadero, también se observa un aumento de las temperaturas en todo el planeta. Si la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico sigue aumentando, existe la probabilidad de que la temperatura media del planeta aumente en 4 °C para el año 2100 (Intergubernamental..., 2014). Además del calentamiento, los cambios en el clima también están relacionados con la distribución de la precipitación, que tiende a ser más escasa en regiones que ya tienen un suministro limitado de agua. Por lo tanto, los cambios en los patrones de lluvia y temperatura pueden afectar la producción agrícola y pueden ser más severos en las regiones donde se hace una agricultura de subsistencia (Lipper et al., 2014).

Por otro lado, el CO<sub>2</sub> es un elemento fundamental en la fotosíntesis de las plantas. Mayores concentraciones de este gas en la atmósfera se traducen, en cierta medida, en aumentos de la producción vegetal (Fagundes et al., 2010; Pimentel, 2011). Este hecho se observa principalmente en plantas C3, en comparación con plantas C4. En las plantas C3 existe la presencia de la enzima ribulosa 1-5 difosfato carboxilasa-oxigenasa (Rubisco), que es responsable de la carboxilación primaria, involucrando el proceso metabólico que rige la fotosíntesis. En el caso de las plantas C4, la respuesta al aumento de la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico es menor, ya que este grupo de plantas tiene mecanismos más eficientes para utilizar el CO<sub>2</sub> en la fotosíntesis (Taiz; Zeiger, 2004).

El aumento de la temperatura tiende a favorecer una mayor demanda hídrica de las especies de plantas, además de influir directamente en la actividad fotosintética (Assad et al., 2004), lo que puede afectar negativamente la producción vegetal. El aumento de la temperatura atmosférica también puede interferir sobre eficiencia de los antagonistas/bioestimuladores para competir en la rizosfera de la planta (Weller et al., 2002; Boughalleb-M'hamdi et al., 2018).

*Trichoderma*, por ejemplo, a pesar de ser un género que se encuentra en varios ambientes, puede presentar características que limitan su desarrollo. La temperatura óptima de crecimiento para la mayoría de los aislamientos está entre 25 y 30 °C. A temperaturas entre 10 y 17 °C se observa una disminución considerable del crecimiento micelial del hongo (Bomfim et al., 2010). En ensayos *in vitro*, realizados en Embrapa Agroindustria Tropical en Fortaleza, Estado de Ceará, fue posible observar que los aislados de *Trichoderma*, incubados a 40 °C, no presentaron crecimiento micelial. A temperatura de 30 °C, el hongo mostró pleno desarrollo (Figura 4).

En varios estudios se ha observado que las temperaturas más extremas interfieren en el desarrollo del hongo (Bomfim et al., 2010; Auler et al., 2013). Los aislados de *Trichoderma*, capaces de actuar como biocontroladores y bioestimulantes de plantas, deben ser capaces de adaptarse a diferentes temperaturas (Ghini; Hamada, 2008). Principalmente porque las temperaturas en los cultivos de melón en el Nordeste alcanzan fácilmente los 40 °C (Figueirêdo et al., 2017). Aquellos aislados de *Trichoderma* mejor adaptados a estas condiciones extremas serán más efectivos y exitosos en el manejo del cultivo de melón. Así, los estudios sobre la “búsqueda” de biocontroladores/bioestimulantes para su uso en cultivos de melón han aumentado considerablemente en los últimos años en el Nordeste brasileño.



**Figura 4.** Aislados de *Trichoderma* mantenidos en incubadoras tipo B.O.D, a temperaturas de 30, 35 y 40 °C, con 48 horas de crecimiento micelial. (A): *Trichoderma asperellum*, (B): *Trichoderma harzianum* y (C): *Trichoderma harzianum*.

## Productos registrados para uso en el manejo de enfermedades del melón

Para el cultivo de melón, actualmente existen productos registrados en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento a base de diferentes especies de *Trichoderma*, recomendadas para el manejo de hongos patógenos, como *R. solani* y *M. phaseolina* y para nematodos como *Pratylenchus zeae*, *P. brachyurus* y *Meloidogyne incognita* (Tabla 1).

**Tabla 1.** Productos biológicos hechos a base de especies de *Trichoderma* para el control de enfermedades del melón

Producto Comercial	Principio activo	Objetivo biológico	Enfermedad
Trichodermil SC 1306	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Trichodermil Super SC 1306	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Quality	<i>T. asperellum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Trichodermax EC	<i>T. asperellum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Predatox	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Organic WP	<i>T. asperellum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Stimucontrol	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Ecotrich WP	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Majestic	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Rizoderma	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Bio Zenon	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Daytona	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Natucontrol	<i>T. harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Bio-Hulk	<i>T. asperellum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off
Tricho-Turbo	<i>T. asperellum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Damping off

Fuente: Agprofit (2003c)

## Consideraciones finales

El uso de diferentes especies de *Trichoderma* como biocontrolador de patógenos y bioestimulante de plantas es una estrategia interesante para un manejo integrado y sustentable en el cultivo del melón. La adopción del uso de este hongo “probiótico” en suelos y plantas favorece la reducción en los niveles de fertilización química, así como en el aporte



de plaguicidas agrícolas. Así, esta alternativa de manejo sustentable también se traduce en incrementos en la productividad en el cultivo del melón.

## Referencias

- AGROFIT: consulta abierta. Brasília, DF: Mapa, c2003. Disponible en: <[http://agrofita.agricultura.gov.br/agrofita\\_cons/principal\\_agrofita\\_cons](http://agrofita.agricultura.gov.br/agrofita_cons/principal_agrofita_cons)>. Acceso en: mar. 2019
- ASSAD, E. D.; PINTO, H. S.; JÚNIOR, J. Z.; ÁVILA, A. M. H. Impacto das mudanças climáticas no zoneamento agroclimático do café no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1057-1064, 2004.
- ATANASOVA, L.; LE CROM, S.; GRUBER, S.; COULPIER, F.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P.; DRUZHININA, I. S. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. **BMC Genomics**, v. 14, n. 121, p. 1-15, fev. 2013.
- AULER, A. C. V.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* a *Sclerotium rolfsii* nas culturas do feijoeiro e soja. **Revista Agro ambiente On-line**, v. 7, p. 359-365, 2013.
- BAUGH, C. L.; ESCOBAR, B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bioaugmentation. **Rice Farm Magazine**, v. 1, n. 4, 2007. 4 p.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.
- BERNAL-VICENTE, A.; ROS, M.; TITTARELLI, F.; INTRIGLIOLO, F.; PASCUAL, J. A. Citrus compost and its water extract for cultivation of melon plants in greenhouse nurseries. Evaluation of nutritive and biocontrol effects. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 18, p. 8722-8728, 2008.
- BERNAL-VICENTE, A.; PASCUAL, J. A.; TITTARELLI, F.; HERNÁNDEZ, J. A.; DIAZ-VICANCOS, P. *Trichoderma harzianum* T-78 supplementation of compost stimulates the antioxidant defence system in melon plants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 11, p. 2208-2214, 2015.
- BETTIOI, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrol de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguarina: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341 p.
- BOMFIM, M. P.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; ALMEIDA, S. S.; SOUZA, I. V. B.; DIAS, N. O. Avaliação antagonista *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010.
- BOUGHALLEB-M'HAMDI, N.; SALEM, I. B.; M'HAMDI, M. Evaluation of the efficiency of *Trichoderma*, *Penicillium*, and *Aspergillus* species as biological control agents against four soil-borne fungi of melon and watermelon. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, n. 25, p. 1-12, 2018.
- COSTA, V. S. O.; MENEZES, C. A. F.; COSTA, N. D. Práticas de controle do oídio do meloeiro no Vale do São Francisco. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 334, jul. 2003.
- COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L.; SANTOS FILHO, L. P.; ALVES, M. C.; MOURA, E. M. Controle Biológico da vassoura-de-bruxa do cacauero na Bahia, Brasil. In: BETTIOI, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds.). **Biocontrol de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguarina: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 245-266.
- EL-KOLALY, G. A. A.; ABDEL-SATTAR, M. A. Biological and chemical control of the sudden wilt disease of cantaloupe in Egypt. **Journal of American Science**, v. 9, n. 11, p. 100-108, 2013.
- FAGUNDES, J. D.; PAULA, G. M.; LAGO, I.; STRECK, N. A.; BISOGNIN, D. A. Aquecimento global: efeitos no crescimento, no desenvolvimento e na produtividade de batata. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1464-1472, 2010.
- FIGUEIRÉDO, M. C. B.; GONDIM, R. S.; ARAGÃO, F. A. S. **Produção de melão e mudanças climáticas: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 302 p.
- FONSÊCA NETO, J.; DANTAS, A. M. M.; SILVA, F. H. A.; CRUZ, B. L. S.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; NASCIMENTO, S. R. C. Efeito de adubo verde e *Trichoderma harzianum* na sobrevivência de *Fusarium solani* e no desenvolvimento do meloeiro. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 10, n. 1, p. 44-49, 2016.
- GALLETTI, S.; FORNASIER, F.; CIANCHETTA, S.; LAZZERI, L. Soil incorporation of brassica materials and seed treatment with *Trichoderma harzianum*: Effects on melon growth and soil microbial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 75, p. 73-78, 2015.

- GAVA, C. A. T.; MENEZES, M. E. L. Eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de patógenos de solo em meloeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 633-640, 2012.
- GAVA, C. A. T.; PINTO, J. M. Biocontrol of melon wilt caused by *Fusarium oxysporum* Schlect f. sp. *melonis* using seed treatment with *Trichoderma* spp. and liquid compost. **Biological Control**, v. 97, p. 13-20, 2016.
- GHINI, R.; HAMADA, E. **Mudanças climáticas: impactos sobre doenças de plantas no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 331 p.
- HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, 2006.
- INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability**. Part A: global and sectoral aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change Cambridge. New York: Cambridge University Press, 2014. 1132 p.
- KUBICEK, C. P.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; DRUZHININA, I. S. Fungal genus *Hypocrea/Trichoderma*: from barcodes to biodiversity. **Journal of Zhejiang University -Science B**, v. 9, n. 10, p. 753-763, 2008.
- LEE, S.; YAP, M.; BEHRINGER, G.; HUNG, R.; BENNETT, J. W. Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 7, p. 1-14, 2016.
- LIPPER, L.; THORNTON, P.; CAMPBELL, B. M.; BAEDEKER, T.; BRAIMOH, A.; BWALYA, M.; CARON, P.; CATTANEO, A.; GARRITY, D. P.; HENRY, K.; HOTTLE, R.; JACKSON, L.; JARVIS, A.; KOSSAM, F.; MANN, W.; MCCARTHY, N.; MEYBECK, A.; NEUFELDT, H.; REMINGTON, T.; SEN, P.T.; SESSA, R.; SHULA, R.; TIBU, A.; TORQUEBLAU, E. Climate-smart agriculture for food security. **Nature Climate Change**, v. 4, p. 1068-1072, 2014.
- LÓPEZ-BÚCIO, J.; RAMÓN, P. F.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 109-123, 2015.
- LUCON, C. M. M. **Trichoderma: o que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura**. São Paulo: Instituto Biológico, 2014. 35 p. MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F.; ANYONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.
- MARTINEZ, C.; BLANC, F.; LE CLAIRE, E.; BESNARD, O.; NICOLE, M.; BACCOU, J. C. Salicylic acid and ethylene pathways are differentially activated in melon cotyledons by active or heat-denatured cellulase from *Trichoderma longibrachiatum*. **Plant Physiology**, v. 127, n. 1, p. 334-344, 2001.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ROLDÁN, A.; PASCUAL, J. A. Performance of a *Trichoderma harzianum* bentonite-vermiculite formulation against *Fusarium* wilt in seedling nursery melon plants. **Hortscience**, v. 44, n. 7, p. 2025-2027, 2009.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ROLDÁN, A.; ALBACETE, A.; PASCUAL, J. A. The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. **Phytochemistry**, v. 72, n. 2/3, p. 223-229, 2011a.
- MARTÍNEZ-MEDINA, 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**, v. 47, n. 2, p. 98-195, 2011b.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ALGUACIL, M. D. M.; PASCUAL, J. A.; VAN WEES, S. C. M. Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 40, n. 7, p. 804-815, 2014.
- MELÃO. In: AGRICULTURAL 2018. São Paulo: Informa Economics FNP, 2018. p.163.
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE: Imprensa Universitária, 2005. 398 p.
- NAWROCKA, J.; MATOLEPSZA, U.; SZYMCAK, K.; SZCZECZ, M. Involvement of metabolic components, volatile compounds, PR proteins, and mechanical strengthening in multilayer protection of cucumber plants against *Rhizoctonia solani* activated by *Trichoderma atroviride* TRS25. **Protoplasma**, v. 255, n. 1, p. 359-373, 2018.



- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and potential and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, v. 23, p. 23-54, set. 1985.
- PIMENTEL, C. Metabolismo de carbono de plantas cultivadas e o aumento de CO<sub>2</sub> e de O<sub>3</sub> atmosférico: situação e previsões. **Bragantia**, v. 70, n. 1, p. 1-12, 2011.
- ROUSSEAU, A. Mycoparasitism of the extramatrical phase of *Glomus intraradices* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v. 86, n. 5, p. 434-443, 1996.
- SANTANDER, C.; OLAVE, J. Efecto de la interacción del hongo micorrízico arbuscular (AMF) *Glomus intraradices* y *Trichoderma harzianum* sobre la producción de plantines de melón en zonas áridas. **IDESIA**, v. 32, n. 2, p. 21-28, 2014.
- SILVA, J. B. T.; MELLO, S. C. M. (Coord.). **Utilização de *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 17 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/189682/utilizacao-de-trichoderma-no-controle-de-fungos-fitopatogênicos>. Acesso em: feb. 2019.
- SIVAN, A.; CHET, I. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. **Phytopathology**, v. 79, n. 2, 198-203, 1989.
- SUÁREZ-ESTRELLA, F.; VARGAS-GARCIA, C.; LOPEZ, M. J.; CAPEL, C.; MORENO, J. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. **Crop Protection**, v. 26, n. 1, p. 46-53, ene. 2007.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.
- TAVARES, S. C. C. H.; COSTA, N. D.; NEVES, R. A. F.; SILVA, P. C. G. C.; LIMA, M. L. C.; MENEZES, C. A. F. Práticas de controle químico e biológico do oídio no meloeiro em subsídio a produção integrada. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, jul. 2004.
- UBALUA, A. O.; OTI, E. Antagonistic properties of *Trichoderma viride* on post-harvest cassava root rot pathogens. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 21, p. 2447-2450, 2007.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.
- ZHANG, J. X.; BRUTON, B. D.; HOWELL, C. R.; MILLER, M. E. Potential of *Trichoderma virens* for biocontrol of root rot and vine decline in *Cucumis melo* L. caused by *Monosporascus cannonballus*. **Subtropical Plant Science**, v. 51, p. 29-37, 1999.
- WELLER, D. M.; RAAIJMAKERS, J. M.; GARDENER, B. B. M.; THOMASHOW, L. S. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 309-348, 2002.

# Uso de *Trichoderma* en el cultivo de fresa

*Suélen Mazon Paula Steilmann*

*Thiago de Oliveira Vargas*

## Introducción

La fresa (*Fragaria ananassa*) es ampliamente cultivada en el mundo, con China liderando la producción con 3 millones de toneladas, seguido de Estados Unidos con 1,4 millones de toneladas al año (Morango, 2017). La producción brasileña viene creciendo, con la adopción de nuevas prácticas de cultivo y materiales genéticos, lo que ha mejorado el escenario del cultivo de la fresa y aumentando el área cultivada.

La fresa es un cultivo promisorio en el mercado tanto para el consumo en fresco como para la industria, debido a que es una fruta muy apreciada a nivel mundial, dada su atractiva apariencia y agradable sabor, además de su alto valor nutracéutico. Los consumidores, cada vez más preocupados por la salud, buscan consumir fresas sin residuos de pesticidas, ya que es el segundo alimento con más residuos de pesticidas en Brasil. Datos de 2013 y 2015 muestran que el 63,4% de las muestras analizadas presentaron contaminación por plaguicidas (Anvisa, 2016). Esto se debe a que es un cultivo susceptible a diversos patógenos, insectos plaga y al desequilibrio nutricional, donde se utiliza una alta carga de insumos químicos y plaguicidas, ya que según Darolt (2008), se hacen alrededor de 45 aplicaciones de plaguicidas durante el ciclo del cultivo.

Así, en el intento de producir frutos que no presenten residuos químicos, existe un creciente interés en el uso de productos biológicos para el control de enfermedades en el cultivo puesto que permiten avanzar en la protección y calidad de las plantas, reduciendo las aplicaciones de pesticidas (Bisutti et al., 2017), lo que favorece la producción de alimentos saludables, preservando el medio ambiente y brindando un manejo sustentable de enfermedades. Además, muchos fungicidas químicos han perdido eficacia contra los patógenos, lo que se

debe en gran parte a la diversidad de microorganismos, adaptabilidad y resistencia creciente (Matei et al., 2011). Entre los agentes de control biológico, los hongos del género *Trichoderma* spp. son los más estudiados. El gran potencial para el biocontrol de hongos *Trichoderma* spp. fue reconocido en 1920 (Harman, 2006), sin embargo, la investigación con estos microorganismos se ha incrementado con los avances en ingeniería genética (Blasczyk et al., 2014). Se ha reportado la eficiencia de algunas cepas de estos hongos para controlar una amplia variedad de plantas cultivadas y también para promover el crecimiento de las plantas (Benítez et al., 2005; Savazzini; Largo, 2009).

La eficiencia en el control de enfermedades de plantas se debe principalmente a múltiples mecanismos de acción, como la competencia por espacio o nutrientes (Savazzini; Longa, 2009; Verma et al., 2007) producción de metabolitos antibióticos, volátiles o no volátiles (Savazzini; Longa, 2009; Verma et al., 2007; Sid-Ahmed et al., 2003) y micoparasitismo (Savazzini; Longa, 2009; Verma et al., 2007). Además, el uso de *Trichoderma* spp. como agentes de biocontrol, también presenta aspectos ventajosos en términos de facilidad de aislamiento, cultivo y caracterización (Sharma et al., 2011).

Por estas y otras razones, estos microorganismos han sido ampliamente estudiados, buscando seleccionar cepas con características de interés y con potencial de aplicación en el control de enfermedades. Entre las especies reportadas, los hongos *T. harzianum* y *T. viride* son los más estudiados, las cuales se utilizan como bioplaguicidas y biofertilizantes (Kumar et al., 2014b; Woo et al., 2014), promotores del crecimiento e inductores de resistencia a las plantas. enfermedades (Woo et al., 2014; Sharma; Singh, 2014). *T. harzianum* es el principal antagonista utilizado en el manejo de enfermedades de plantas en la agricultura debido a su relación costo-efectividad y efectos mínimos sobre el equilibrio ecológico (Kumar et al., 2014a).

### **El uso de *Trichoderma* spp. en el cultivo de fresa**

La fresa es un cultivo sujeto al efecto de diversos patógenos e insectos plaga, desde la etapa de plántula hasta la poscosecha. Las enfermedades que se presentan en los frutos reducen el rendimiento, siendo las más comunes aquellas causadas por *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cactorum*. Sin embargo, enfermedades como la pudrición de la raíz y la mancha de la hoja reducen indirectamente el rendimiento, al debilitar a la planta o pueden hasta provocar la muerte. Los patógenos que atacan el sistema radicular son los hongos *P. cactorum* y *P. fragariae*, entre los patógenos causantes de enfermedades foliares destacan los hongos *Mycosphaerella fragariae* y *Diplocarpon earliana* (Bisutti et al., 2017).

Así, los hongos pertenecientes al género *Trichoderma* se encuentran entre los más utilizados como agentes de biocontrol de enfermedades de plantas a nivel mundial. Esto debido a que, el cultivo de la fresa, *Trichoderma* spp. pueden ser utilizadas durante todo el

proceso del cultivo, desde la preparación del suelo hasta el control de patógenos de brotes y postcosecha.

### **El uso de *Trichoderma* spp. en la preparación del suelo y del sustrato para el cultivo de fresa**

Actualmente, la producción de fresa se realiza adoptando diferentes medios de cultivo y prácticas culturales, siendo el más conocido y practicado, el cultivo en el suelo en camas elevadas con el uso de *mulching*, plástico o paja. Sin embargo, en muchos lugares se ha adoptado el cultivo fuera del suelo, en sistema de banco, con uso de sustrato.

Cuando la fresa se siembra en el suelo, el primer paso que realizan los productores es la preparación del suelo para recibir las plántulas de fresa previamente cultivadas. En este proceso, una de las prácticas de manejo empleadas es la desinfección del suelo, ya que éste puede estar habitado por una gran cantidad de patógenos, los cuales pueden colonizar las raíces de las plántulas recién trasplantadas en respuesta a los exudados radiculares, debilitándolas y provocando su mortalidad.

De esa forma, durante muchos años, una de las prácticas adoptadas para la erradicación del inóculo de los patógenos que habitan el suelo era aplicar fumigaciones con bromuro de metilo. Sin embargo, este químico es altamente tóxico y su uso fue prohibido a través del Protocolo de Montreal, por lo que Brasil se comprometió a abolir su uso para el año 2015, a través de la Instrucción Normativa N° de septiembre de 2002 (BRASIL, 2002). Desde entonces, se han buscado otras formas de controlar los patógenos que habitan en el suelo, mediante el uso de productos químicos permitidos, alternativas culturales, como la rotación de cultivos, el uso de cultivares resistentes, la solarización y la biofumigación del suelo (Martin; Bull, 2002).

De esta forma, con miras a la producción de alimentos saludables y la preservación del medio ambiente, una de las alternativas a la fumigación usando productos químicos es la utilización del agente de biocontrol, *Trichoderma* spp., conocido como biofumigación. Con esta táctica de control, además de combatir los patógenos, se busca promover el equilibrio ecológico del suelo, favoreciendo la microbiota y confiriéndole beneficios posteriores durante el desarrollo de la planta (Harman, 2006). Este proceso de biofumigación con *Trichoderma* spp. se puede realizar en asociación con la solarización, ya que muchas especies del género *Trichoderma* spp. resisten altas temperaturas (Porrás et al., 2007a). La combinación de estas tácticas de manejo aumenta el rendimiento de la fresa en un 78,2% (Porrás et al., 2007b), mejora las condiciones de la rizosfera y reduce la población del hongo *P. cactorum*, que causa la pudrición de la corona.

Además del uso de *Trichoderma* spp. en cultivos de suelo, estos también pueden ser usados en sistemas de cultivo con diferentes formulaciones de sustrato. En nuestros experimentos, al

cultivar fresa dentro de un sistema agroecológico, en sistema de banco, se obtuvo el sustrato a través del proceso de compostaje, en el cual se mezcló un 30% de tierra extraída del bosque. En este proceso se realizó solarización y luego biofumigación del sustrato compuesto, utilizando *Trichoderma harzianum*, a una concentración de 2 mL por litro de agua.

### ***Trichoderma* spp. en la preparación de plántulas para el cultivo de fresas**

Después de elegir y preparar el lugar de cultivo, la obtención y siembra de las plántulas es una práctica importante para asegurar el éxito de la producción de fresas. Actualmente, las plántulas de fresa que se comercializan en mayor proporción son plántulas a raíz desnuda, las cuales, en consecuencia, están más sujetas al ataque de patógenos, ya que al momento del trasplante puede ocurrir fragmentación de raíces, convirtiéndose en puertas de entrada de patógenos habitantes del suelo, además de las condiciones en que fueron almacenados. Por lo tanto, se recomienda sumergir las raíces en una solución de *Trichoderma* spp. antes de plantar las plántulas, lo que contribuirá a combatir y prevenir el ataque de los patógenos presentes en el medio, aumentando la tasa de supervivencia y acelerando también el desarrollo inicial de las plantas en el campo (Verdial et al., 2009).

Estudios que evalúan el tratamiento de plántulas de fresa con *T. harzianum* ( $1,4 \times 10^{10}$  esporas mL<sup>-1</sup>), *Bradyrhizobium japonicum* ( $7,5 \times 10^9$  cel mL<sup>-1</sup>) e incorporación de silicio, Richter et al. (2016) encontraron que el tratamiento utilizando solo *T. harzianum* proporcionó el mayor diámetro y acumulación de materia fresca y seca en la corona, debido a la posible presencia de fitohormonas estimuladas por la aplicación de *T. harzianum*. Además de promover el crecimiento de las plantas, los estudios demuestran el éxito de la práctica en relación con la incidencia de enfermedades. Pastrana et al. (2016) encontraron que el tratamiento preventivo (presiembrado) mediante inmersión de raíces de fresa en solución de *T. asperellum* fue más eficiente que el tratamiento curativo (postsiembrado), reduciendo la incidencia de pudrición carbonosa (*Macrophomina phaseolina*) hasta en 44% en cámara de crecimiento y hasta en 65% en condiciones de campo, y la pudrición de la raíz y de la corona por *Fusarium solani* hasta un 100% en cámara de crecimiento y 81% en condiciones de campo.

Porras et al. (2009) analizaron la aplicación de *Trichoderma* spp. mediante un sistema de riego por goteo e inmersión de las raíces de las plántulas de fresa para el control de la antracnosis (*Colletotrichum* spp.) y demostraron que los tratamientos redujeron la incidencia del patógeno y, consecuentemente, la mortalidad de las plantas entre 58,6 y 63,5% en relación al testigo y no se observaron diferencias entre las plántulas sumergidas en la solución de *Trichoderma* spp. o con aplicación del antagonista por riego por goteo.

De esta forma, la práctica de sumergir las raíces en una solución de *Trichoderma* spp. favorece la colonización de la rizosfera de las plantas, previniendo el ataque de patógenos, lo que garantiza el éxito del control de enfermedades por parte del agente de biocontrol.

De manera práctica, el agricultor, al recibir las plántulas de fresa que están a raíz desnuda, prepara la solución de *Trichoderma harzianum*, utilizando una dosis de 1 mL por litro de agua y sumerge las raíces en esta mezcla, después de la siembra.

### ***Trichoderma* spp. en el control de patógenos habitantes del suelo en cultivos de fresa**

Tras el trasplante de las plántulas y durante todo el ciclo de cultivo se realizan tratamientos para el combate de patógenos. La fresa está sujeta al ataque de varios patógenos del suelo, que son los principales causantes de la pudrición de la raíz y de la corona, los más frecuentes son: *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., y *Rhizoctonia* spp., siendo los síntomas más comunes el oscurecimiento y el deterioro del sistema radicular, la disminución del vigor de la planta y una reducción considerable del rendimiento, lo que lleva a la mortalidad de la planta hospedante.

Así, una opción para prevenir y controlar el ataque de estos patógenos es el uso de productos a base de *Trichoderma* spp., los cuales contribuyen con la reducción del uso de productos químicos, con el fin de ofrecer frutos de mayor calidad y libres de residuos químicos.

Al evaluar el efecto antagónico de *T. harzianum* contra *R. solani* en fresa, Asad-Uz-Zaman et al. (2015) observaron una reducción de 71,97% en el crecimiento radial de *R. solani* en comparación con otros químicos. En otro estudio que evaluó el control del patógeno *R. fragariae* a través de *Trichoderma* spp. en comparación con un fungicida químico, demostraron que solo 18,25 y 8,25% de las plantas tratadas con los hongos *T. harzianum* y *T. viride* presentaron síntomas de marchitez, sin embargo, el fungicida químico presentó solo 3,25% de plantas con síntomas de enfermedad (Aziz; Marzani, 2017), por lo tanto, el uso del control biológico, aunque en algunos casos no es tan efectivo como los fungicidas, es un método alternativo y seguro para controlar las enfermedades de las plantas.

Los aislamientos de *T. harzianum*, *T. viride* y *T. hamatum* ( $3 \times 10^7$  esporas/ml) aumentaron el contenido de fenoles totales, clorofila y también el rendimiento de frutos de fresa en comparación con el control y también redujeron la incidencia de enfermedades radiculares (Figura 1) causadas por *R. solani*, *F. solani*, *F. oxysporum* y *M. phaseolina* en plantas de fresa en pre y postemergencia (Ahmed; El-Fiki, 2017).



**Figura 1.** Síntomas de pardeamiento vascular en tallo de fresa (derecha), causado por patógenos del suelo.

La capacidad de las especies de *Trichoderma* spp. también fue reportada para el control de la antracnosis al micoparasitar hifas *Colletotrichum* spp. aisladas de fresa *in vitro*.

El efecto de la combinación de hongos micorrízicos (*Glomus mosseae* y *Acaulospora laevis*) y *T. viride* sobre el crecimiento y rendimiento de la fresa fue estudiada por Chauhan et al. (2010). Estos autores demostraron que la combinación entre *A. laevis* y *T. viride*, promueve el incremento en la altura de la planta, peso fresco y seco de la parte aérea, peso fresco de la raíz, clorofila total y contenido de fósforo en la raíz en relación al testigo sin aplicación, dando mayor rendimiento de plantas de fresa.

Se realizó un estudio para evaluar el comportamiento del hongo *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento y rendimiento de la fresa utilizando cuatro concentraciones de *Trichoderma* spp. (T0: testigo; T1: 100 g/m<sup>2</sup>; T2: 200 g/m<sup>2</sup> y T3: 300 g/m<sup>2</sup>) y se encontró el mayor rendimiento y calidad de frutos en el tratamiento T1 y los valores más bajos para el tratamiento testigo (Uddin et al., 2017). Así, el uso de *Trichoderma* contribuye al crecimiento y desarrollo de las plantas de fresa, lo cual se evidenció en el rendimiento, aunque también se demostró que el uso de mayores concentraciones no se reflejó en ganancia para el cultivo.

### ***Trichoderma* spp. en el control de patógenos de la parte aérea y en postcosecha en fresa**

Los productos disponibles que son formulados a base de *Trichoderma* spp. están indicados para el control de patógenos del suelo, los cuales son aplicados al suelo, mediante un sistema de riego por goteo o aspersión. Sin embargo, muchos estudios evalúan la aplicación vía foliar, buscando el control de enfermedades de la parte aérea y en postcosecha.



La producción de fresa en ambientes protegidos produce frutos de calidad y prolonga la producción, siendo una forma de cultivo que ayuda en el control de varias enfermedades como el moho gris y la antracnosis, sin embargo, se observa un incremento en la ocurrencia de oídio (Xiao et al., 2001). Estudios que evalúan el potencial de *Trichoderma* spp. en el control de oídio (*Sphaerotheca macularis*) en comparación con la efectividad del uso de fungicidas químicos, mostró que el agente de biocontrol *T. harzianum* T39 mostró mayor actividad contra oídio en fresa, sin embargo, el mayor control se observó con el uso de fungicidas químicos, sugiriendo aplicaciones intercaladas de agentes de biocontrol y fungicidas químicos para el control de la enfermedad (Pertot et al., 2008), buscando así realizar un manejo integrado.

El moho gris causado por el hongo *Botrytis cinerea* es una enfermedad importante en el cultivo puesto que afecta a los frutos de fresa (Figura 2). Esta enfermedad, además de manifestarse en campo, se presenta en postcosecha, reduciendo la calidad de los frutos y su vida útil. Kowalska (2011), al estudiar la aplicación de *T. asperellum* en la incidencia de *B. cinerea*, concluyó que el uso de *T. asperellum* como agente de control biológico de enfermedades en postcosecha prolonga el almacenamiento hasta 7 días después de la cosecha, con ausencia de *B. cinerea*. Además, el aislado promovió un mayor desarrollo de las plantas de fresa en campo. Robinson-Boyer et al. (2009) evaluó dos especies de *Trichoderma* y *B. subtilis* para el control de *B. cinerea* y demostró que los productos a base de *T. atroviride* y *T. harzianum* fueron más efectivos para el control del moho gris en fresa en comparación con *B. subtilis*. La aplicación postcosecha del aislado de *T. harzianum* en frutos de fresa demostró la eficiencia del agente de biocontrol para combatir el moho gris (Cruz et al., 2018).



**Figura 2.** Frutos de fresa atacados por *B. cinerea*, causante de la enfermedad del moho gris.

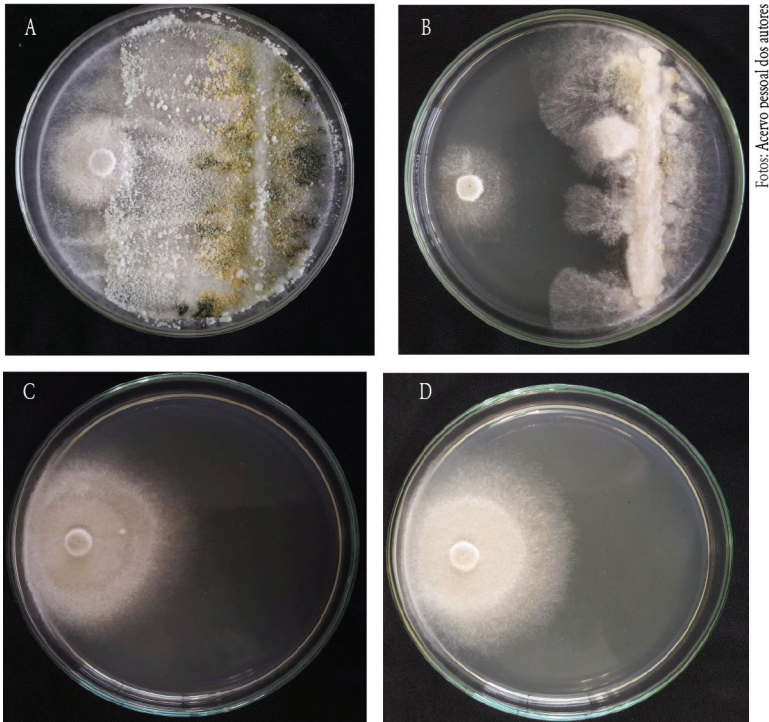
Los estudios muestran que los productos formulados a base de aislados de *T. harzianum*, aplicados solos o en combinación, fueron efectivos para el control de la antracnosis (*Colletotrichum acutatum*) y el moho gris (*B. cinerea*) en plantas de fresa, considerando



diferentes tiempos de aplicación y dosis (Freeman et al., 2004). Debido a los múltiples mecanismos de acción que ejercen los hongos del género *Trichoderma* spp., antagonismo, antibiosis y micoparasitismo, el uso de diferentes aislados en conjunto puede resultar en una mayor eficiencia en el control de patógenos (Vos et al., 2015).

Como se demostró previamente, los aislados de *Trichoderma* spp. son eficientes en el control del moho gris, sin embargo, existe la necesidad de realizar aplicaciones frecuentes. En este sentido, las abejas pueden usarse como diseminadores de los agentes de control biológico en el cultivo objetivo. En un estudio realizado en EE.UU. se utilizaron abejas como vectores de una formulación comercial de *T. harzianum* para el control de *B. cinerea* en plantas de fresa. Para verificar la eficiencia de la colocación del antagonista, se comparó el método de diseminación por abejas con la aplicación por aspersión y se recolectaron flores durante todo el experimento, observándose que los tratamientos con abejas generalmente tenían la mitad de la densidad de *T. harzianum* en comparación con la aspersión. Sin embargo, durante los 4 años del estudio, la eficiencia de *T. harzianum* cuando se usaron abejas proporcionó un mejor control de *B. cinerea*. Además, la aplicación de *T. harzianum* mediante el uso de abejas proporcionó un control del moho gris igual o mejor que los fungicidas comerciales aplicados durante la floración (Kovach et al., 2000). En otro estudio realizado en Israel, se demostró la capacidad de las abejas para diseminar propágulos de *T. harzianum* para el control de *B. cinerea* en fresa cultivada en campo, durante el invierno. Se observó que, a niveles bajos a medios de la enfermedad, el tratamiento con *T. harzianum* aplicado por las abejas fue más eficiente que la aplicación de fungicidas, sin embargo, cuando existían altos niveles de la enfermedad, ni el control químico ni el biológico fueron efectivos. Además, se encontró que la aplicación del antagonista por parte de las abejas se extendía hasta 200 m de distancia de la colmena (Shafir et al., 2006).

Los productos disponibles en el mercado a base de *Trichoderma* spp. se encuentran en forma de solución concentrada o granulado dispersable en agua, por lo que se ha estudiado la acción de estas diferentes formulaciones, solución concentrada y granulado dispersable, y de los metabolitos de *T. harzianum* sobre el desarrollo de *B. cinerea*, demostrándose que, en una prueba de antagonismo *in vitro*, la formulación en gránulos dispersables en agua mostró mayor eficiencia en el control del crecimiento micelial de *B. cinerea* (Figura 3). La actividad de biocontrol ejercida por el hongo antagonista puede ocurrir de manera indirecta, compitiendo por espacio y nutrientes, o incluso modificando las condiciones que se encuentran en el medio de cultivo, produciendo antibióticos, inactivando las enzimas del patógeno o, directamente, a través del micoparasitismo (Hartman, 2004).



**Figura 3.** Inhibición del crecimiento micelial de *B. cinerea* por efecto de la acción directa de productos biológicos a base de *T. harzianum*. a) gránulos dispersables en agua, b) solución concentrada, c) metabolitos de *T. harzianum* mezclados en el medio de cultivo y d) el testigo.

Este mismo estudio evaluó la acción de aplicaciones de productos a base de *T. harzianum* antes de la cosecha sobre el desarrollo de la enfermedad del moho gris en postcosecha, demostrando la eficiencia de los productos utilizados en la preservación del proceso de deterioro de los frutos, aumentando el período de almacenamiento (Figura 4).

Foto: Acervo pessoal dos autores



**Figura 4.** Incidencia de moho gris en frutos de fresa sometidos a tratamiento antes de la cosecha con aplicación de productos a base de *Trichoderma harzianum* en las formulaciones de a) Granulado dispersable en agua, b) Solución concentrada y c) Metabolitos y en comparación con el testigo (D).

Además de su uso en el combate de los patógenos que afectan a la fresa, también se ha utilizado la expresión de genes antifúngicos de *T. harzianum* con el fin de conferir resistencia a las plantas. Se realizó un estudio para evaluar plantas transgénicas de fresa con el gen *bgn13.1* de la  $\beta$ -1,3-glucanasa procedente de *T. harzianum*. Las plantas fueron aclimatadas y posteriormente inoculadas con *C. acutatum*, dando como resultado plantas con menos síntomas de antracnosis en hoja y corona que aquellas plantas que no tenían el gen *bgn13.1* (Mercado et al., 2015).

## Consideraciones finales

En general, el uso de productos biológicos va en aumento, por lo que, los estudios que demuestren la eficiencia de la aplicación de estos productos en el cultivo de la fresa podrán incentivar su uso por parte de los agricultores y hacer que la producción agrícola esté libre de plaguicidas, además de aumentar la demanda de alimentos saludables. Los agentes de biocontrol llegan a nichos del mercado donde los productos químicos no pueden operar, la denominada agricultura sustentable, donde se busca preservar el medio ambiente y ofrecer productos saludables, lo cual le da un valor agregado.

El uso de *Trichoderma* spp. en el cultivo de la fresa es una alternativa eficaz, práctica y segura, que brinda protección a las plantas, desde el inicio del cultivo hasta la postcosecha, contribuyendo a la obtención de frutos de calidad, sin residuos químicos, además de favorecer el crecimiento y desarrollo de las plantas. Por lo tanto, se necesitan más estudios que abarquen otros patógenos que afectan el cultivo, así como Forma de aplicación que alcancen a las diferentes formas de cultivo.

## Referencias

- AHMED, M. F. A.; EL-FIKI, I. A. I. Effect of Biological Control of Root Rot Diseases of Strawberry Using *Trichoderma* spp. **Middle East Journal of Applied Sciences**, v.7, n. 3, p. 482-492, 2017.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**, 2016. < [http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/re\\_l\\_anual\\_2001-2006.pdf](http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/re_l_anual_2001-2006.pdf) >. Acceso el 14 jun. 2019.
- ASAD-UZ-ZAMAN, M.D.; BHUIYAN, M. R.; KHAN, M. A. I.; BHUIYAN, M. K. A.; LATIF, M. A. L. Integrated options for the management of black root rot of strawberry caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Comptes Rendus Biologies**, v. 338, n. 2, p.112-120, 2015.
- AZIZ, B. A.; MARZANI, Q. A. Molecular identification and management of *Rhizoctonia fragariae* the pathogen of black root rot of strawberry plant. **Science Journal of University of Zakho**. v. 5, n.2, p.172-177, 2017.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A.C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n.4, p. 249-260, 2005.
- BLASCZYK, L.; SIWULSKI, M.; SOBIERSKI, K.; LISIECKA, J.; JEDRYCZKA, M. *Trichoderma* spp. Application and prospects for use in organic farming and industry. **Journal of Plant Protection Research**, v. 54, n. 4, p. 309-317, 2014.
- BISUTTI, I. L.; PELZ, J.; BÜTTNER, C.; STEPHAN, D. Field assessment on the influence of RhizoVital® 42 fl. and Trichostar® on strawberries in the presence of soil-borne diseases. **Crop Protection**, v. 96, p. 195-203, 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 1, de 10 de setembro de 2002**. Brasília, DF, 2002. Disponible en: <[https://www.mma.gov.br/estruturas/ozonio/\\_arquivos/instrucaoNormativa01sda\\_130.pdf](https://www.mma.gov.br/estruturas/ozonio/_arquivos/instrucaoNormativa01sda_130.pdf)>. Acceso el: 18 nov. 2019.
- CHAUHAN, S.; KUMAR, A.; MANGLA, C.; AGGARWAL, A. Response of Strawberry plant (*Fragaria ananassa* Duch.) to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma viride*. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 2, p. 213-218, 2010.
- CRUZ, A.F.; BARKA, G. T.; SYLLA, J.; REINEKE, A. Biocontrol of strawberry fruit infected by *Botrytis cinerea*: Effects on the microbial communities on fruit assessed by next-generation sequencing. **Journal of Phytopathology**, v. 166, p. 403-411, 2018.
- DAROLT, M. R. Morango orgânico: opção sustentável para o setor. **Revista Campo & Negócio-Hortifrutí**, n. 34, p.58-61, 2008. FREEMAN, S.; MINZ, D.; KOLESNIK, I.; BARBUL, O.; ZVEIBIL, A.; MAYMON, M.; NITZANI, Y.; KIRSHNER, B.; RAV-DAVID, D.; BILU, A.; DAG, A.;

- SHAFIR, S.; ELAD, Y. *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and survival in strawberry. **European Journal of Plant Pathology**, v.110, n. 4, p.361-370, 2004.
- HARMANN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, p.190-194, 2006.
- KOVACH, J.; PETZOLDT, R.; HARMAN, G. E. Use of Honey Bees and Bumble Bees to Disseminate *Trichoderma harzianum* 1295-22 to Strawberries for Botrytis Control. **Biological Control**, v. 18, n. 3, p. 235-242, 2000.
- KOWALSKA, J. Effects of *Trichoderma asperellum* [T1] on *Botrytis cinerea* [Pers.: Fr.], growth and yield of organic strawberry. **Acta Scientiarum Polonorum: Hortorum Cultus**, v. 10, n.4, p.107-114, 2011.
- KUMAR, V.; SHAHID, M.; SRIVASTAVA, M.; SONIKA, P.; SINGH, A.; SHARMA, A. Role of secondary metabolites produced by commercial *Trichoderma* spp. and their effect against soil borne pathogens. **Biosensors**, v. 3, n. 1, p. 1-5, 2014a.
- KUMAR, S.; THAKUR, M.; RANI, A. *Trichoderma*. Mass production, formulation, quality control, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 5, p. 3838- 3852, 2014b.
- MARTIN, F. N.; BULL, C. T. Biological approaches for control of root pathogens of strawberry. **Phytopathology**, v.92, p.1356-1362, 2002.
- MATEI, S.; MATEI, G. M.; CORNEA, P.; POPA, G. Characterization of soil *Trichoderma* isolates for potential biocontrol of plant pathogens. **Factori i procese pedogenetice din zona temperate**, v. 10, p. 29-37, 2011.
- MERCADO, J. A.; BARCELO, M.; PLIEGO, C.; REY, M.; CABALLERO, J. L.; MUNOZ-BLANCO, J.; RUANO-ROSA, D.; LOPEZ-HERRERA, C.; SANTOS, B. L.; ROMERO-MUNOZ, F.; PLIEGO-ALFARO, F. Expression of the  $\beta$ -1,3-glucanase gene *bgn13.1* from *Trichoderma harzianum* in strawberry increases tolerance to crown rot diseases but interferes with plant growth. **Transgenic Research**, v.24, n.6, p. 979-989, 2015.
- MORANGO. In: FAOSTAT: Statistics Division. FAQ, 2017. Disponible en: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/>>. Acceso el: 29 sept. 2018.
- PASTRANA, A. M.; BASALLOTE-UREBA, M. J.; AGUADO, A.; AKDI, K.; CAPOTE, N. Biological control of strawberry soil-borne pathogens *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium solani*, using *Trichoderma asperellum* and *Bacillus* spp. **Phytopathologia Mediterranea**, v.55, n.1, p.109-12, 2016.
- PERTOT, I.; ZASSOB, R.; AMSALEMA, L.; BALDESSARIB, M.; ANGELIB, G.; ELAD, Y. Integrating biocontrol agents in strawberry powdery mildew control strategies in high tunnel growing systems. **Crop Protection**, v. 27, p. 622–631, 2008.
- PORRAS, M.; BARRAU, C.; ROMERO, F. Effects of soil solarization and *Trichoderma* on strawberry production. **Crop Protection**, v. 26, p. 782–787, 2007a.
- PORRAS, M.; BARRAU, C. E.; ROMERO, F. Controle biológico da antracnose com *Trichoderma* em campos de morango. **Acta Horticulturae**, v. 842, p. 351-354, 2009.
- PORRAS, M.; BARRAU, C.; ARROYO, F. T.; SANTOS, B.; BLANCO, C.; ROMERO, F. Reduction of *Phytophthora cactorum* in strawberry fields by *Trichoderma* spp. and Soil Solarization. **Plant Disease**, v. 91, n. 2, p.142-146, 2007b.
- RICHTER, A. F.; ROHRIG, B.; RAMOS, R. F.; SOBUCKI, L.; TONIN, J.; SCHNEIDER, E. P. Crescimento da parte aérea de mudas de morangueiro através da inoculação de *Trichoderma*, rizóbio e incorporação de silício. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**, v.8, p. 1-11, 2016.
- ROBINSON-BOYER, L.; JEGGER, M. J.; XU, X.; JEFFRIES, P. Management of strawberry grey mould using mixtures of biocontrol agents with different mechanisms of action. **Biocontrol Science and Technology**, v.19, n.10, p.1051-1065, 2009.
- SAVAZZINI, F.; LONGA, C. M. O. Impact of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* SC1 on soil microbial communities of a vineyard in northern Italy. **Soil Biology Biochemistry**, v. 41, n.7, p. 1457-1465, 2009.
- SID-AHMED, A.; EZZIYYANI, M.; PÉREZ-SÁNCHEZ, C.; CANDELA, M. E. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. **European Journal Plant Pathology**, v. 109, p. 418-426, 2003.
- SHAFIR, S.; DAG, A.; BILU, A.; ABU-TOAMY, M.; ELAD, Y. Honey bee dispersal of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* T39: effectiveness in suppressing *Botrytis cinerea* on strawberry under field conditions. **European Journal of Plant Pathology**, v. 116, n. 2, p. 119-128, 2006.
- SHARMA, P.; VIGNESH, K. P.; RAMESH, R.; SARAVANAN, K.; DEEP, S.; SHARMA, M.; MAHESH, S.; DINESH, S. Biocontrol genes from *Trichoderma* spp.: A review. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 8, p.19898-19907, 2011.

- SHARMA, K.K., SINGH, U.S. Cultural and morphological characterization of rhizospheric isolates of fungal antagonist *Trichoderma*. **Journal of Applied and Natural Science**, v. 6, n. 2, p. 451-456, 2014.
- UDDIN, A. J.; HUSSAIN, M. S.; RAHMAN, S. S.; RONI, H. A. M. Potential of *Trichoderma* as consistent plant growth stimulators of strawberry. **International Journal of Business, Social and Scientific Research**, v.5, n. 2, p. 155-158, 2017.
- VERDIALI, M. F.; TESSARIOLI NETO, J.; MINAMI, K.; SCARPARE FILHO, J. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; SCARPARE, F. V.; BARELA, J. F.; DEL AGUILA, J. S.; KLUGE, R. A. Fisiologia de mudas de morangueiro produzidas em sistema convencional e em vasos suspensos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n. 2, p. 524-531, 2009.
- VERMA, M.; BRAR, S. K.; TYAGI, R. D.; SAHAIV, K.; PREVOST, D.; VALÉRO, J. R.; SURAMPALLID, R. Y. Bench-scale fermentation of *Trichoderma viride* on wastewater sludge: rheology, lytic enzymes and biocontrol activity. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, p.764-771, 2007.
- VOS, C. M. F.; CREMER, K. D.; CAMMUE, B. P. A.; CONINCK, B. D. The toolbox of *Trichoderma* spp. in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 16, n. 4, p.400-412, 2015.
- XIAO, C. L.; CHANDLER, C. K.; PRICE, J. F.; DUVAL, J. R.; MERTELY, J. C.; LEGARD, D. E. Comparison of epidemics of *Botrytis* fruit rot and powdery mildew of strawberry in large plastic tunnel and field production system. **Plant Disease**, v. 85, n. 8, p. 901-909, 2001.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, p. 71-126, 2014.





# Uso de *Trichoderma* en el cultivo de uva

Marcus André Kurtz Almança

Júlio César Tonello

Carine Rusin

Renato Vasconcelos Botelho

## Introducción

En Brasil, la producción de uva se concentra en las regiones Sur, Sudeste, Centro Oeste y Nordeste, con la mayor área cultivada ubicada en el estado de Rio Grande do Sul (64,85%) lo que constituye 47.383 ha plantadas del total plantado en Brasil. En el estado de Rio Grande do Sul, la viticultura se realiza en diferentes regiones como Serra gaúcha, Campos de cima da Serra, Campanha gaúcha y Serra do Sudeste. Actualmente se plantan aproximadamente 37.900 ha en la Serra gaúcha, entre uva viníferas, americanas e híbridas, lo que corresponde al 51,0% del área plantada en Brasil (Rosa, 2016; IBGE, 2018; Mello et al., 2017).

En la viticultura brasileña, uno de los principales obstáculos es la ocurrencia de enfermedades, que provocan pérdidas cualitativas y cuantitativas en la producción de uvas, vinos, jugos y derivados. Entre estas enfermedades, los hongos representan la mayor parte y están presentes en todas las regiones productoras, aun cuando están ubicadas en diferentes climas y condiciones ambientales. En general, las enfermedades fúngicas más importantes suelen ser las mismas en estas regiones, siendo las principales el mildiú lanoso (*Plasmopara viticola*), el mildiú polvoroso (*Erysiphe necator*), la antracnosis (*Elsinoe ampelina*), la escoriosiis (*Phomopsis viticola*), pudrición del racimo (*Botryotinia fuckeliana*), antracnosis de la uva (*Glomerella cingulata*) y enfermedades del tronco como: fusariosiis (*Fusarium oxysporum* f. sp. *herbemontis*), yesca (*Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium* spp., *Fomitiporia* spp.) enfermedad de Petri (*Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium* spp.), pie negro (*Cylindrocarpon* spp., *Ilyonectria* spp., *Campylocarpon*



spp., *Dactylonectria* spp., entre otras) y pudrición de la semilla (*Botryosphaeria* spp., *Neofusicoccum* spp., *Lasiodiplodia* spp.) (Sonego et al., 2005; Almança et al., 2015; Almança et al., 2013a; Cavalcanti et al. 2013).

Las enfermedades del tronco de la vid, en particular, han causado daños a la viticultura en varios países, desde la producción de plántulas hasta el establecimiento del viñedo, provocando el deterioro y la muerte de las plantas (Fontaine et al., 2016; Almança et al., 2013a; Cavalcanti et al., 2013a; Cavalcanti et al., 2016; Almança et al., 2013a; Cavalcanti et al., 2013). En Brasil, en una encuesta realizada por Rusin et al. (2015) en viñedos de la Serra gaúcha, se observó que, en promedio, el 90% de las plantas con síntomas externos de decaimiento y muerte tenían la presencia de al menos una especie de hongo causante de enfermedades del tronco. La aparición de estas enfermedades trae consigo la necesidad de reposición de plantas o renovación completa del viñedo, según el porcentaje de plantas afectadas y la edad del viñedo, lo que conlleva a un aumento de los costos de producción y una disminución de los ingresos por parte del productor. Fontaine et al. (2016) demostraron que a medida que avanza la edad de los viñedos aumenta la ocurrencia de estas enfermedades y disminuye la producción de uva y a partir de los 15 años, las pérdidas pueden superar el 50% de la producción.

Otro grupo importante de enfermedades es la pudrición del racimo. *Botryotinia fuckeliana* (forma sexual *Botrytis cinerea*) se presenta en todas las regiones productoras de vid y se ha considerado uno de los principales agentes causales de este tipo de pudrición, provocando una reducción en la producción y en la calidad de los frutos de uva. Esto provoca una mala calidad de los vinos producidos debido a la alteración en la composición, la cual es evidenciada por el aumento en la presencia de compuestos tóxicos que afectan a las levaduras que inhiben el proceso de fermentación y disminuyen la intensidad del color (Fedrizzi et al., 2011; Agudelo-Romero et al., 2015). Al igual que con otras enfermedades fúngicas, el uso de fungicidas químicos es la principal estrategia para el control de la pudrición gris (Shtienberg, 2007; Molitor et al., 2012), sin embargo, para el control de la pudrición del racimo también se recomienda la utilización de medidas de manejo como defoliación, poda y fertilización nitrogenada adecuada (Wilcox, 2014). Además, el desarrollo de productos para el control biológico ha ofrecido nuevas posibilidades para el manejo de estas enfermedades con menor impacto ambiental. Varias especies del hongo *Trichoderma* tienen una alta capacidad para el control de hongos habitantes del suelo y, en algunas situaciones, también se destaca en el control de hongos que causan enfermedades de la parte aérea. En este sentido, el uso de este agente de biocontrol podría realizarse en viveros en el proceso de producción de plántulas y también en viñedos.

En cuanto al control de hongos habitantes del suelo, una posibilidad para el manejo del pie negro es el uso de *Trichoderma* spp. en viveros y al momento de la siembra. En Sudáfrica,

Halleen et al. (2001) observaron que los portainjertos inoculados con *Trichoderma harzianum* tenían menor incidencia de *Cylindrocarpon* spp. con resultados similares a los fungicidas utilizados. Además, se observó un aumento de la masa total de la raíz total en los portainjertos tratados con *T. harzianum*.

Además, algunos estudios mostraron la posibilidad de controlar hongos que causan enfermedades del tronco en la parte aérea de las plantas de vid. Kexiang et al. (2001), informaron que los aislamientos de *Trichoderma* spp. fueron eficientes sobre especies de *Botryosphaeria* que colonizaban las heridas de poda. También se ha observado el efecto del uso de *Trichoderma* spp. en la reducción de las infecciones de heridas por *P. chlamydospora* (Halleen; Foure, 2005). Pitt et al. (2010) informaron que el uso de *Trichoderma* redujo la incidencia de la colonización por *D. seriata* en ramas de vid de un año. En experimentos *in vitro*, Di Marco et al. (2004) obtuvieron resultados positivos en cuanto a la inhibición del crecimiento de *P. chlamydospora*. Con base en estos resultados, actualmente existen varios productos basados en *Trichoderma harzianum* los cuales están disponibles para productores en Sudáfrica, Australia y Nueva Zelanda. Estos productos están recomendados para el control de enfermedades causadas por *Eutypa lata*, *Chondrostereum purpureum* y *Phaeoconiella chlamydospora*. En Francia, los productos a base de *T. atroviride* se recomiendan para *Eutypa lata*, *Botryosphaeria parva*, *B. obtusa*, *P. chlamydospora* y *Phaeoacremonium*. En Italia se pueden encontrar productos con *T. asperellum* y *T. gamsii* recomendado para *P. chlamydospora*, *Fomitiporia mediterranea* y *P. Aleophilum* (Bettiol et al., 2012).

Entre las ventajas del uso de *Trichoderma* está la capacidad mostrada por diferentes cepas para colonizar la superficie de las heridas, especialmente aquellas causadas por daños durante la poda, donde llegan a penetrar alrededor de 1-2 cm en el interior de la madera, evitando así la entrada de patógenos asociados a enfermedades del tronco. En experimentos de campo, Di Marco et al. (2004) observaron que *T. harzianum* puede permanecer en la vid hasta tres meses después de la aplicación. Hunt et al. (2001) aislaron *Trichoderma* spp. 8 meses después de la aplicación sobre heridas en condiciones controladas, demostrándose la persistencia del producto en la madera de la vid. La eficacia en la protección de heridas por *Trichoderma* spp. depende tanto de su capacidad de colonizar estos sitios (John et al., 2008) así como de la interacción con la vid, pudiendo ser más o menos efectiva según el cultivar utilizado (Mutawila et al., 2011). La eficacia del uso de *Trichoderma* también depende del cuidado durante la aplicación, el uso está indicado como tratamiento preventivo, siendo recomendable realizar una dilución del tratamiento entre 24 a 36 horas antes de la aplicación, favoreciendo la germinación de las esporas y obteniendo una colonización más rápida (Remedier, 2017).

En una revisión de la literatura por Elmer; Reglinski (2006) se señalan varios estudios que demuestran la eficiencia de las especies de *Trichoderma* en el control de *B. cinerea*. Las

pruebas realizadas con aislados y productos ya formulados mostraron un control equivalente a los fungicidas químicos en EE. UU., Nueva Zelanda, Rumania y Chile.

Además del control directo de fitopatógenos mediante la utilización de especies de *Trichoderma*, Perazzoli et al. (2011) observaron que *T. harzianum* fue capaz de inducir resistencia en vides y ser eficiente en el control del mildiú lanoso. Sin embargo, se encontró que la combinación de estrés abiótico (alta temperatura y déficit hídrico) afecta la inducción de genes de resistencia a fitopatógenos (Roatti et al., 2013).

### **Uso de *Trichoderma* en el cultivo de vid en Brasil**

El uso de las especies de *Trichoderma* en la agricultura ha sido mayoritariamente para el control de fitopatógenos habitantes del suelo, donde este agente de biocontrol expresa mejor sus características. Sin embargo, en algunos cultivos y enfermedades, este agente de biocontrol se ha utilizado para controlar enfermedades de la parte aérea.

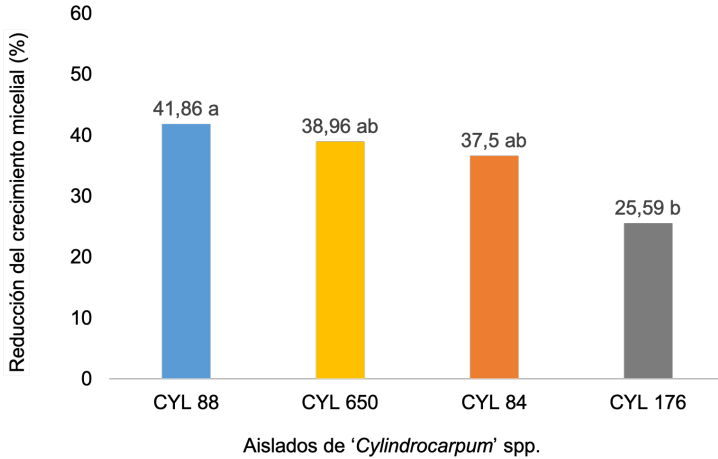
A pesar de la presencia de algunas especies de nematodos en el cultivo de la vid (Gomes et al., 2009) y de que el registro de productos biológicos actualmente está asociado únicamente al objetivo biológico, lo que permitiría utilizar estos productos en este cultivo, el manejo de nematodos en este cultivo no se ha realizado utilizando productos a base de *Trichoderma*.

En la vid, una posibilidad de utilizar especies de *Trichoderma* es para el control de fitopatógenos habitantes suelo que causan enfermedades como la fusariosis (*F. oxysporum* f.sp. *herbomontis*) y pie negro (*Cylindrocarpon* spp., *Campylocarpon* spp., *Ilyonectria* spp., *Dactylonectria* spp., entre otros). Aunque todavía no hay productos registrados para estos objetivos biológicos en Brasil, algunos estudios han sido realizados por investigadores para verificar la eficacia de *Trichoderma* contra estos hongos. En la misma línea, también se ha trabajado en el control de enfermedades del tronco y la parte aérea como la pudrición de la semilla, la enfermedad de Petri y la yesca.

Con relación a la parte aérea, un posible uso que se ha estudiado es para el control de la pudrición del racimo de vid, como la pudrición gris.

### **Capacidad y variabilidad *in vitro* del antagonismo**

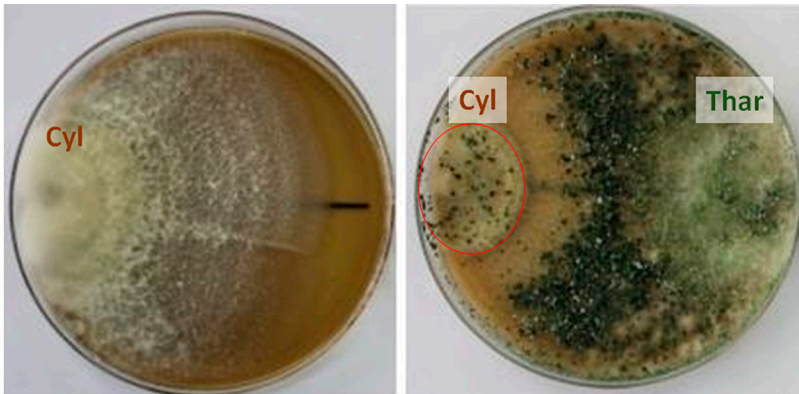
Los resultados de algunas investigaciones han mostrado la eficiencia de *Trichoderma harzianum* para su uso para el control del pie negro en la producción de plántulas de vid en sustrato y en la siembra en campo. Tonello et al. (2016a) señalaron que el uso de *Trichoderma harzianum* (Aislado IBLF 006,  $1 \times 10^{10}$  UFC/g de producto, Ecotrich, Ballagro Agro Tecnología Ltda) provocó la inhibición de los aislados de '*Cylindrocarpon*' spp., que varió de 25,6 a 41,9 % (Figura 1). Esta variabilidad está asociada a la capacidad de antagonismo, competencia por nutrientes en el ambiente y el micoparasitismo (Figura 2).



**Figura 1.** Reducción del crecimiento micelial (%) de aislados de *Cylindrocarpon* spp. por efecto del uso de *Trichoderma harzianum*.

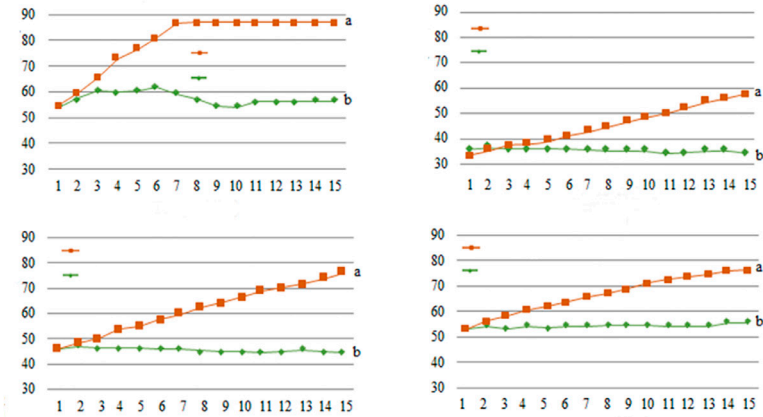
Fuente: Tonello et al. (2016a)

Fotos: Julio César Tonello



**Figura 2.** Efecto del enfrentamiento directo de *Cylindrocarpon* spp. y *Trichoderma harzianum*: (A) Únicamente el hongo *Cylindrocarpon* spp. (Cyl) y (B) *Cylindrocarpon* spp. y *T. harzianum* (Thar). El área demarcada en rojo indica la presencia de puntos de esporulación de *T. harzianum* sobre el micelio de *Cylindrocarpon* spp.

Esta variabilidad también puede estar asociada a la tasa de crecimiento del fitopatógeno, como se puede observar en la Figura 3, donde los aislados evaluados mostraron diferentes velocidades para alcanzar el máximo crecimiento.



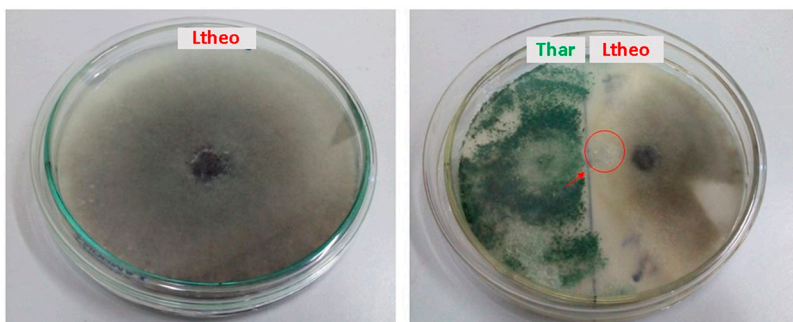
**Figura 3.** Evolución del crecimiento micelial (mm) de aislados de *Cylindrocarpon* spp. (Cyl 84, Cyl 176, Cyl 88 y Cyl 650) en confrontación directa con *Trichoderma harzianum*.

Fuente: Tonello et al. (2016<sup>o</sup>).

En un estudio realizado por Heckler (2015) utilizando diferentes productos a base de *Trichoderma* para el control del pie negro en vid (diferentes aislados de *C. pseudofasciculare* de la Serra gaúcha), se observó que los productos probados eran eficientes en la reducción del crecimiento micelial. Todas las especies/aislados de *Trichoderma* presentes en los productos fueron capaces de inhibir el crecimiento micelial, con valores que oscilan entre el 41,1 y 44,5% en el caso de la inhibición directa y entre el 50,9 y el 67,5 % por efecto de la producción de metabolitos volátiles. Santos et al. (2016) observaron un efecto similar de productos a base de *Trichoderma* spp. en la inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *D. macrodidyma*. Estos autores también observaron valores de inhibición más altos por metabolitos volátiles producidos por *Trichoderma* spp. que van de 48,8 a 66,8%, cuando se comparan con los observados por inhibición directa (36,8 a 43,1%).

La eficiencia del uso de *T. harzianum* *in vitro* también fue verificada por Rusin (2017) en pruebas de antagonismo con *L. theobromae* y *L. brasiliense*, aislados de vides sintomáticas del Nordeste de Brasil y *B. dothidea* obtenidas de un viñedo en la Serra Gaucho (Figura 4). Por confrontación directa, *T. harzianum* proporcionó reducción del crecimiento entre 24,6 y 62,2 % para los aislados del género *Lasiodiplodia* y 18,8 % para el aislado del género *Botryosphaeria*. En el mismo trabajo no se observó el efecto de los metabolitos volátiles de *T. harzianum*, lo que indica que la eficiencia de este producto está dada por la competencia contra los aislados evaluados.

Fotos: Carme Rusiñ;



**Figura 4.** Efecto del enfrentamiento directo de *Lasiodiplodia theobromae* y *Trichoderma harzianum*: (A) Solo el hongo *L. theobromae* (Ltheo) y (B) *L. theobromae* y *T. harzianum* (Thar). El área demarcada en rojo indica la presencia de puntos de esporulación de *T. harzianum* sobre el micelio de *L. theobromae*.

### Eficiencia y formas de uso de *Trichoderma* spp. en vid

El uso de productos a base de *Trichoderma* en viticultura se puede realizar durante las diferentes etapas del proceso productivo y del ciclo de la planta. En general, la principal estrategia es utilizar este agente de biocontrol para proteger las heridas de la planta, desde el sistema radicular hasta la parte aérea.

En un estudio realizado por Heckler (2015) en el cual utilizó diferentes productos a base de *Trichoderma* para el control de pie negro en plántulas de vid, se observó que los productos probados fueron eficientes en la reducción del reaslamiento de *C. pseudofasciculare* y en el aumento del peso seco de raíces. Todos los productos mostraron una eficiencia similar en la reducción del porcentaje de reaslamiento, entre 14,4 y 26,4%. Por el contrario, Santos et al. (2016) no observaron una reducción en el reaslamiento de *Dactylonectria macrodidyma* en plántulas de vid inoculadas.

Cabe señalar que la aplicación de productos a base de *Trichoderma* es muy importante para obtener mejores resultados, ya que este hongo tiene la función de proteger el sistema radicular de las plantas (Guzmán-Guzmán et al., 2018). Es esencial que el agente de biocontrol proteja a la planta antes de que el fitopatógeno esté en la superficie de la planta. Mutawila et al. (2011) observaron que la aplicación de *T. harzianum* en las heridas ocasionadas por la poda antes de la inoculación del hongo *P. chlamydospora* proporcionó el mejor resultado de control. En el caso de los trabajos de Heckler (2015) y Santos et al. (2016), la aplicación de los productos se realizó en mezcla sobre el sustrato y los fitopatógenos se aplicaron en la superficie del sistema radical.

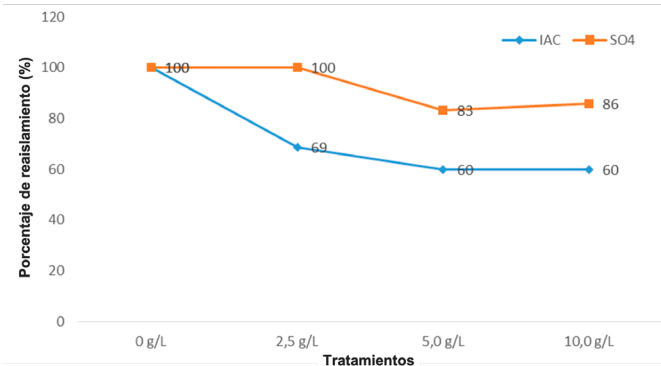
Con la estrategia de aplicación de *Trichoderma* por inmersión de las raíces de plántulas de vid durante 2 a 3 horas antes de la siembra (Figura 5) y con posterior aplicación de riegos



mensuales, Tonello et al. (2016b) observaron que el aumento de la presencia del agente de biocontrol en las raíces proporcionó una reducción en el reasiamiento de *Cylindrocarpon* sp. después de un año sobre el patrón IAC-572 ‘Jales’. En el portainjerto ‘SO4’ se observó menor presencia del agente de biocontrol en las raíces aún a las dosis más altas, lo que se reflejó en un mayor porcentaje de presencia de *Cylindrocarpon* sp. (Figura 6).



**Figura 5.** Diferentes formas de aplicación de *Trichoderma* para el control de fitopatógenos habitantes del suelo en vid. (A) Inmersión de raíces antes de plantar y (B) riego de las plantas cercanas.



**Figura 6.** Reducción en la ocurrencia de pie negro usando diferentes dosis de *Trichoderma harzianum* en IAC-572 Portainjertos ‘Jales’ y ‘SO4’. Fuente: Tonello et al., 2016b.

La eficacia de un producto comercial a base de *T. harzianum* para la protección en heridas fue evaluada por Rusin (2017) en plántulas de los cultivares de dosel Bordô (*Vitis labrusca*) y Syrah clon 174 (*Vitis vinifera*), ambos injertados sobre ‘Paulsen 1103’. Siguiendo

la metodología de Díaz; Latorre (2013), las plántulas fueron podadas y se aplicaron 2 mL de una solución de  $4 \text{ gL}^{-1}$  de un producto comercial a base de *T. harzianum* en el sitio de la herida de poda con ayuda de una micropipeta (Figura 7), 24 horas después de la aplicación de los tratamientos, las vides fueron inoculadas con discos de micelio de *B. dothidea* (aislado 164) y *L. theobromae* (aislado 307). Se evaluó la longitud de la decoloración vascular interna, porcentaje de reaslamiento del patógeno y las condiciones fisiológicas de las vides. Los experimentos se realizaron en el período vegetativo y de dormancia de la planta.

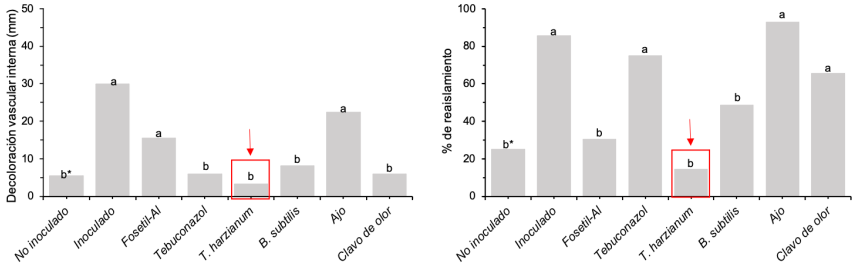


**Figura 7.** Aplicación de *T. harzianum* con micropipeta en plantas en dormancia (A, B) y en poda en verde (C). El área demarcada en rojo indica la herida hecha con tijera al momento de la poda.

En vid cv. Syrah (Figura 8) y Bordô inoculados con *L. theobromae* se observó una reducción en el porcentaje de reaslamiento del patógeno. Cuando se inoculó con *B. dothidea*, *Trichoderma* fue eficiente en vides cv. Bordô. En ambos experimentos, *T. harzianum* se



volvió a aislar a partir de plantas tratadas, 8 y 5 meses después de la inoculación. El uso de *T. harzianum* demostró ser una opción efectiva para proteger las heridas de ambos cultivares, proporcionando una reducción en los niveles de infección, sin alteración de las condiciones fisiológicas de la planta.



**Figura 8.** Decoloración vascular interna (mm) y porcentaje de reaslamiento a los 5 meses de la inoculación, después de la poda de invierno, de *B. dothidea* en plántulas de vid cv. Syrah. \*Medias seguidas de la misma letra no mostraron diferencias entre sí de acuerdo con la Prueba de Scott-Knott con una probabilidad del 5%. Guarapuava – PR, 2017.

Otra posibilidad de la utilización de *Trichoderma* spp. sería para el control de la pudrición del racimo. Almanza et al. (2013b) observaron que un aislado de *Trichoderma* fue eficiente en la reducción de la incidencia de pudrición gris de la uva en racimos del cultivar Tempranillo, al compararlo con aplicaciones realizadas con fungicidas químicos registrados para esta enfermedad. No se observaron diferencias en la severidad de la enfermedad.

Con base en una revisión de la literatura, la tabla 1 muestra las posibilidades de uso de los productos *Trichoderma* en vid.

**Tabla 1.** Posibilidades de uso de productos a base de *Trichoderma* spp. en vid, según la localización y aparición de enfermedades

Ubicación	Forma de uso	Enfermedad de Petri	Pie negro	Pudrición descendente	Yesca	Pudrición gris	Referencias
Vivero	Sustrato		X				Heckler, 2015, Tonello et al. 2016a
	Hidratación de raíces		X				Di Marco et al., 2004; Fourie; Halleen, 2004, 2006; Halleen; Fourie 2016; Pertot et al., 2016; Tonello et al., 2016b
	Riego del suelo		X				Tonello et al., 2016b
	Protección de las heridas en plántulas	X	X	X			Fourie et al., 2001; Mutawila et al., 2011; Heckler, 2015
	Protección de heridas al plantar plántulas	X	x	x			Mutawila et al., 2011; Rusin, 2017
Viñedo	Hidratación de raíces		X				Mounier et al., 2014; Tonello et al. 2016b; Berlanas et al., 2018
	Riego del suelo		X				Tonello et al., 2016b
	Protección de heridas por la poda	X		X	X		Di Marco et al., 2004; Halleen; Fourie, 2005; Kexiang et al., 2001; Pitt et al., 2010; Mutawila et al., 2011; Rusin 2017
	Aplicación durante floración y al racimo					X	Almança et al., 2013b

## Consideraciones finales

Hasta el momento, en Brasil, se han realizado varios estudios que buscan viabilizar el uso eficiente de *Trichoderma* spp. en viveros y viñedos. Los resultados obtenidos en ensayos *in vitro* donde se usan aislados y productos comerciales disponibles para otros cultivos han demostrado que es posible utilizarlo en el cultivo de la vid. Sin embargo, lo que se observa es la necesidad de registrar productos más específicos para los fitopatógenos causantes de enfermedades en este cultivo. Aún es necesario desarrollar proyectos que permitan optimizar los resultados, haciendo más eficiente el uso de *Trichoderma* en vid en el manejo sustentable de enfermedades.

## Referencias

- AGUDELO-ROMERO, P.; ERBAN, A.; REGO, C.; CARBONELL-BEJERANO, P.; NASCIMENTO, T.; SOUSA, L.; MARTÍNEZ-ZAPATER, J.M.; KOPKA, J.; FORTES, A. M. Transcriptome and metabolome reprogramming in *Vitis vinifera* cv. Trincadeira berries upon infection with *Botrytis cinerea*. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 1769–1785, 2015.
- ALMANÇA, M. A. K.; ABREU, C.; SCOPEL, F.; BENEDETTI, M.; HALLEEN, F.; CAVALCANTI, F. **Evidências morfológicas da ocorrência de *Phaeoaniella chlamydospora* em videiras no Estado do Rio Grande do Sul**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013a. (Embrapa Uva e Vinho. Comunicado Técnico, 134).
- ALMANÇA, M. A. K.; GIOTTO, G.; CAMPOS, T. C.; PEREGRINO, I. Cinza nefasto. **CULTIVAR HF**, v. 81, p. 18-19, 2013b.
- ALMANÇA, M. A. K.; LERIN, S.; CAVALCANTI, F. R. Doenças da videira. **Informe Agropecuário**, v. 36, p. 70-80, 2015. BERLANAS, C.; ANDRÉS-SODUPE, M.; LÓPEZ-MANZANARES, B.; MALDONADO GONZÁLEZ, M. M.; GRAMAJE, D. Effect of white mustard cover crop residue, soil chemical fumigation and *Trichoderma* spp. root treatment on black foot disease control in grapevine. **Pest Management Science**, v. 74, n. 12, p. 2864-2873, 2018.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; JÚNIOR, T. J. P.; CORREA, E. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 88).
- CAVALCANTI, F. R.; BUENO, C. J.; ALMANÇA, M. A. K. **Declínio e morte de plantas de videira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013. 44 p. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 82).
- DI MARCO, S.; OSTI, F.; CESARI, A. Experiments on the Control of Esca by *Trichoderma*. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 43, p. 108-115, 2004.
- DÍAZ, G. A.; LATORRE, B. A. Efficacy of paste and liquid fungicide formulations to protect pruning wounds against pathogens associated with grapevine trunk diseases in Chile. **Crop Protection**, v. 46, p. 106-112, 2013.
- ELMER, P. A. G.; REGLINSKI, T. Biosuppression of *Botrytis cinerea* in grapes. **Plant Pathology**, v. 55, p. 155-177, 2006.
- FEDRIZZI, B.; TOSI, E.; SIMONATO, B.; FINATO, F.; CIPRIANI, M.; CARAMIA, G.; ZAPPAROLI, G. Changes in wine aroma composition according to botrytized berry percentage: a preliminary study on Amarone wine. **Food Technology and Biotechnology**, v. 49, n. 4, p. 529–535, 2011.
- FONTAINE, F.; GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J.; SMART, R.; NAGY, Z. A.; BORGQ, M.; REGO C.; CORIO-COSTET, M. F. **Grapevine trunk diseases: a review**. Paris: OIV, 2016. 24 p.
- FOURIE, P. H.; HALLEEN, F.; VAN DER VYVER, J.; SCHREUDER, W. Effect of *Trichoderma* treatments on the occurrence of decline pathogens in the roots and rootstocks of nursery grapevines. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 40, p. 473–478, 2001.
- FOURIE, P. H.; HALLEEN, F. Occurrence of grapevine trunk disease pathogens in rootstocks mother plants in South Africa. **Australasian Plant Pathology**, v. 33, n. 2, p. 313-315, 2004.
- FOURIE, P. H.; HALLEEN, F. Chemical and biological protection of grapevine propagation material from trunk disease pathogens. **European Journal of Plant Pathology**, v. 116, n. 4, p. 255-265, 2006.
- GOMES, C. B. G.; CAMPOS, A. D.; COSTA, F. A. **Levantamento de nematoides fitoparasitas associados a pomares de videira em declínio da Serra Gaúcha**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 16 p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 110).
- GUZMÁN-GUZMÁN, P.; PORRAS-TRONCOSO, M. D.; OLMEDO-MONFIL, V.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. **Phytopathology**, v. 109, p. 6-16, 2018.
- HALLEEN, F.; VAN DER VYVER, J.; FOURIE, P.; SCHREUDER, W. Effects of *Trichoderma* treatments on the occurrence of decline pathogens in the roots and rootstocks of nursery grapevines. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 40, p. 473-478, 2001.
- HALLEEN, F.; FOURIE, P. Protection of grapevine pruning wounds against fungal infections. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 44, p. 117-118, 2005.
- HALLEEN, F.; FOURIE, P. H. An integrated strategy for the proactive management of grapevine trunk disease pathogen infections in grapevine nurseries. **South African Journal of Enology and Viticulture**, v. 37, n. 2, p. 104-114, 2016.

- HECKLER, L. I. **Rootstocks reaction to black foot and biological control of *Campyloctenium pseudofasciculare* on vine**. 2015. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- HUNT, J.; GALE, D.; HARVEY, I. Evaluation of *Trichoderma* as bio-control for protection against wood-invading fungi implicated in grapevine trunk diseases. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 40, p. 485-486, 2001.
- IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Sistema IBGE de Recuperação Automática – Sidra. Disponible en <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>>. Acceso el: 18 nov. 2018.
- JOHN, S.; WICKS, T.; HUNT, J.; SCOTT, E. Colonisation of grapevine wood by *Trichoderma harzianum* and *Eutypa lata*. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 14, p. 18-24, 2008.
- KEXIANG, G.; XIAO GUANG, L.; RUNFANG, G.; BAOJIA, G.; TIANBO, Z. Mycoparasitism of *Trichoderma* spp. on five plant pathogenic fungi. **Journal of Shandong Agricultural University**, v. 33, p. 37-42, 2001.
- MELLO, L. M. R.; MACHADO, C. A. E.; SILVA, S. M. R.; ZANESCO, R. Dados cadastrais da viticultura do Rio Grande do Sul: 2013 a 2015. In: MELLO, L. M. R.; MACHADO, C. A. E. (Ed.). **Cadastro Vitícola do Rio Grande do Sul: 2013 a 2015**. Brasília, DF: Embrapa, p. 9-30, 2017. Capítulo 1. Disponible en: <[http://www.cnpuv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2013-2015/dados/dados\\_cadastrais\\_descricao.html](http://www.cnpuv.embrapa.br/cadastro-viticola/rs-2013-2015/dados/dados_cadastrais_descricao.html)>. Acceso el: 18 nov. 2018.
- MOLITOR, D.; BEHR, M.; HOFFMANN, L.; EVERS, D. Impact of grape cluster division on cluster morphology and bunch rot epidemic. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 63, p. 508-514, 2012.
- MOUNIER, E.; CORTES, F.; CADIOUS, M.; PAJOT, E. The benefits of *Trichoderma atroviride* I-1237 for the protection of grapevines against trunk diseases: from the nursery to the vineyard. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 53, p. 591-592, 2014.
- MUTAWILA, C.; FOURIE, P.; HALLEEN, F.; MOSTERT, L. Grapevine cultivar variation to pruning wound protection by *Trichoderma* species against trunk pathogens. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 50, p. 264-276, 2011.
- PERAZZOLLI, M.; ROATTI, B.; BOZZA, E.; PERTOT, I. *Trichoderma harzianum* T39 induces resistance against downy mildew by priming for defense without costs for grapevine. **Biological Control**, v. 58, n. 1, p. 74-82, 2011.
- PERTOT, I.; PRODORUTTI, D.; COLOMBINI, A.; PASINI, L. *Trichoderma atroviride* SC1 prevents *Phaeoaniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum* infection of grapevine plants during the grafting process in nurseries. **BioControl**, v. 61, n. 3, p. 257-267, 2016.
- PITT, W.; SOSNOWSKI, M.; TAYLOR, A.; RUJUAN, H.; QUIRK, L.; HACKETT, S.; SOMERS, A.; STEEL, C.; SAVOCCHIA, S. Management of *Botrytisphaeria* canker of grapevines. **Australian Viticulture-Practical Vineyard Management**, v. 14, n. 2, p. 52-56, 2010.
- REMEDIER: **Eco-friendly solution against soil-borne diseases**. Milan: Isagro, 2017. Disponible en: <<https://www.isagro.com/static/upload/31-31-remedier.pdf>>. Acceso el: 23 sept. 2018.
- ROATTI, B.; PERAZZOLLI, M.; GESSLER, C.; PERTOT, I. Abiotic stresses affect *Trichoderma harzianum* T39-induced resistance to downy mildew in grapevine. **Phytopathology**, v. 103, n. 12, p.1227-1234, 2013.
- ROSA, S. M. **Cartilha de vinhos do Brasil**. 2.ed. Bento Gonçalves: IBRAVIN, 2016. 56p.
- RUSIN, C.; OLIVEIRA, M. R.; DEUS, C. N. S.; NONDILLO, A.; ALMANÇA, M. A. K. Presença de fungos relacionados a doenças de tronco e de pérola-da-terra em plantas de videira com sintoma de declínio. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 14.; Fraiburgo, 2015. **Anais...** Caçador: Epagri, 2015. v. 2, p. 108
- RUSIN, C. **Agentes biológicos, extratos vegetais e produtos químicos no controle de fungos associados a doenças de tronco da videira**. 2017. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, PR.
- SANTOS, R. F.; HECKLER, L. I.; LAZAROTTO, M.; GARRIDO, L. R.; REGO, C.; BLUME, E. *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* for control of *Dactyloctenium aegyptium* in grapevine. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 55, n. 2, p. 293-300, 2016.
- SHTIENBERG, D. Rational management of Botrytis-incited diseases: Integration of control measures and use of warning systems. In: ELAD, Y.; WILLIAMSON, K.; TUDZYNSKI, P.; DELEN, N. (Ed.). **Botrytis: biology, pathology and control**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 335-347.
- SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. R.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. **Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. 32p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 56)

TONELLO, J. C.; PACINI, B. A. H.; COMACHIO, L. B.; KANEKO, L.; ALMANÇA, M. A. K. Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* à diferentes isolados de *Cylindrocarpum* spp. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA SOBRE AGRICULTURA SUSTENTÁVEL, 4.; ENCONTRO CAXIENSE PARA O DESENVOLVIMENTO DA AGRICULTURA ORGÂNICA E SUSTENTÁVEL, 6. **Anais...** Caxias do Sul, 2016a. v. 1, p.58.

TONELLO, J. C.; LERIN, S.; OLIVEIRA, M. R.; GROHS, D. S.; ALMANÇA, M. A. K. Uso de *Trichoderma harzianum* como estratégia para redução de impactos causados pelo pé preto na implantação de vinhedos. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 12.; SIMPOSIO DE MANEJO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 16. **Anais...** Lavras: UFLA, NEFIT, 2016b. v.1. p.253

WILCOX, W. F. Management of grape diseases in the United States. **Revista Agropecuária Catarinense**, v. 27, n.2 (Suplemento), p. 83-88, 2014.

# Uso de *Trichoderma* en cultivos forestales

Álvaro Figueredo dos Santos

Heloisa Thomazi Kleina

Eduardo Jun Fuzitani

Henrique da Silva Silveira Duarte

## Introducción

El sector forestal es de gran importancia para la economía brasileña, especialmente en los sectores de producción de celulosa, papel, muebles, paneles y energía, el cual contribuye con el 1,2% del PIB (IBÁ, 2017) y con la generación de 3,7 millones de empleos (directos, indirectos y resultante del efecto renta). Además, la oferta de materia prima de los bosques plantados ayuda a reducir la presión sobre los bosques nativos (Scolforo; Ferraz Filho, 2013).

Las especies forestales más plantadas en Brasil son el eucalipto (*Eucalyptus* spp.), con casi seis millones de hectáreas, distribuidas en casi todo Brasil, seguidas por los pinos (*Pinus taeda* y *P. elliottii*) con cerca de dos millones de hectáreas, más limitados a la región sur. Además de estas especies, se incluye el caucho (*Hevea brasiliensis* (Wild. ex. A. Juss) Mell. Arg.) con 229.000 ha, acacia negra (*Acacia mearnsii* Wild.), con 160.000 ha, pashaco o pino chuncho (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke), con 90.000 ha, teca (*Tectona grandis* L. f.), con 87.000 ha y el álamo (*Populus deltoides*) con 4.200 ha. También se encuentran especies forestales no maderables como yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.), con 98.000 ha (IBÁ, 2017) y chontaduro (*Bactris gasipaes* Kunth. var. *gasipaes* Henderson), con 20.000 ha (Penteado Junior et al., 2014).

Debido a la importancia socioeconómica que tienen estos cultivos, es necesario prestar más atención a sus problemas fitosanitarios, para que no limiten su explotación en Brasil. Algunas enfermedades han causado daños significativos y existe poca investigación en el área forestal que busque estrategias alternativas de control, especialmente con medidas de control

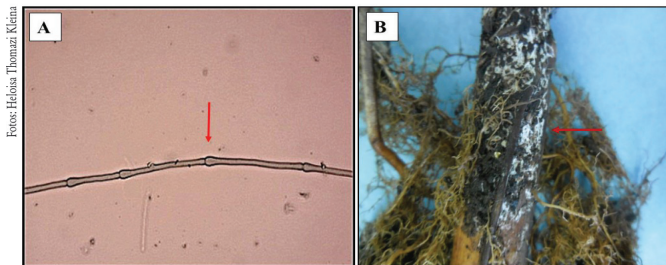
biológico. Así, en este capítulo se discutirán ocho casos de estudio, con énfasis en el control biológico usando *Trichoderma* en algunos patosistemas forestales, tal como se señala a continuación: *Rosellinia bunodes* x álamo, *Phytophthora palmivora* x chontaduro, *Armillaria* sp. x pino, *Fusarium* spp. x yerba mate, *Lasiodiplodia theobromae* x teca, *Rhizoctonia solani* x eucalipto, *Cylindrocladium* spp. x eucalipto y *Fusarium* spp. x semillas de pino.

## Estudios de caso

### Pudrición blanca de las raíces del álamo

La pudrición blanca de las raíces del álamo se considera una enfermedad relativamente nueva en Brasil que fue reportada por primera vez en plantaciones comerciales en el Estado de Paraná en 2010 (Santos et al., 2017). El agente causal es el hongo *R. bunodes* (Berk. et Br.) Sacc., un patógeno habitante del suelo, con capacidad anaeróbica y de sobrevivir durante años en materiales vegetales en descomposición (Hoopen; Krauss, 2006). Este ascomiceto penetra en las raíces de sus hospedantes, provocando pudriciones (Santos et al., 2017). Los síntomas tales como el amarillamiento, el marchitamiento de las hojas y el secado de las ramas, se hacen visibles dentro de los 14 días posteriores a la inoculación del fitopatógeno en plántulas de álamo (Kleina et al., 2018). La rápida colonización del hongo en las raíces reduce el transporte de savia a la parte aérea, lo que termina en la muerte prematura de la planta. La temperatura ideal para el crecimiento micelial de *R. bunodes* es cercana a los 24 °C (Kleina et al., 2018).

*R. bunodes* produce peritecios lisos y oscuros que contienen ascosporas unicelulares en su interior (Hoopen; Krauss, 2006), sin embargo, son difíciles de encontrar en los árboles afectados. La reproducción asexual ocurre a través de conidios y es incluido dentro del género *Dematophora* (Sivanesan; Holliday, 1972). Las hifas de *R. bunodes* tienen hinchamientos piriformes en los septos (Figura 1A) que pueden agregarse para formar rizomorfas (Figura 1B). *R. bunodes* se encuentra preferentemente en regiones tropicales, con reportes en América Central y del Sur, África Occidental y Asia (Hoopen; Krauss, 2006).



**Figura 1.** A) Hifa de *R. bunodes* con septos piriformes (flecha) a 400X; B) Rizomorfas de *R. bunodes* (flecha) sobre las raíces de plántulas de álamo. Colombo (PR), Brasil.

Al ser un hongo generalista, *Rosellinia* es capaz de infectar a una amplia gama de plantas hospedantes. Waterston (1941), Saccas (1956) y Aranzazu et al. (1999) señalaron su presencia en cultivos de importancia económica, como aguacate (*Persea americana* Mill), especie de bananos triploides (*Musa* spp.), café (*Coffea* sp.), cacao (*Theobroma cacao* L.), limón (*Citrus aurantifolia* Christm. Swingle), nuez moscada (*Myristica fragrans* Houtt.), yuca (*Manihot esculenta* Crantz), macadamia (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche), inga (*Inga* spp.), así como plantas ornamentales como el corcho (*Erythrina* sp.). En el área forestal, *Rosellinia* sp. ha sido reportada en araucaria (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) (Auer; Grigoletti, 1997) y en yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) (Grigoletti; Auer, 1996). La pudrición blanca de las raíces puede manifestarse en cualquier etapa del desarrollo de la planta hospedante y puede atacar plantas jóvenes y adultas.

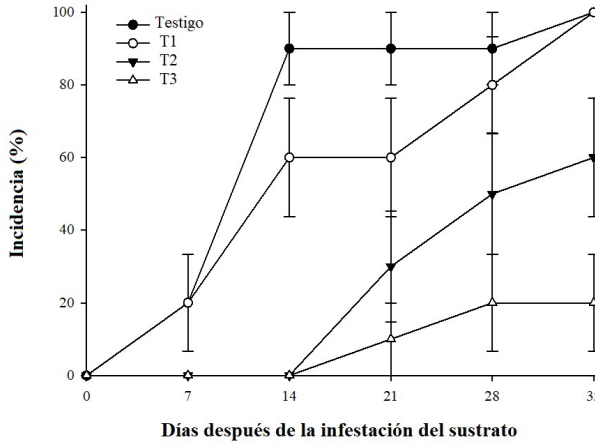
El uso de control cultural, como la erradicación de plantas enfermas y la remoción de restos de madera en descomposición, son las únicas opciones de control para esta enfermedad (May-De-Mío et al., 2016). Sin embargo, estas medidas no son suficientes para reducir el potencial de inóculo del patógeno en el suelo.

En la búsqueda de estrategias alternativas de control, el uso del control biológico responde a las necesidades de este sistema. En ensayos *in vitro* donde se usó el hongo antagonista *Trichoderma* sp., Thomazi (2015) demostró la inhibición del crecimiento micelial de *R. bunodes* utilizando los métodos de cultivos pareados, liberación de compuestos volátiles y no volátiles. Entre los métodos utilizados en esta investigación, el de liberación de compuestos volátiles fue el más eficiente, que proporcionó una reducción promedio de 59% del crecimiento micelial de *R. bunodes*, seguido de 27% y 24%, para la prueba de cultivos pareados y compuestos no volátiles, respectivamente. Varios autores también encontraron respuestas inhibitorias por la acción de *Trichoderma* spp. en el crecimiento micelial de diferentes especies de *Rosellinia* (Sztejnberg et al., 1987; Ruano-Rosa et al., 2010). Pasini et al. (2016) reportaron que el crecimiento micelial *in vitro* de *R. necatrix* disminuyó luego del segundo día de pareamiento con el aislado de *T. atroviride*, y al 7° día el porcentaje de inhibición del crecimiento radial del fitopatógeno alcanzó 54%.

En experimentos *in vivo*, las plántulas de álamo sembradas 14 días después de la infestación del sustrato con *R. bunodes* y *T. asperellum* tuvieron la incidencia más baja de la enfermedad (Figura 2) y la más baja área bajo la curva de progreso relativo de la enfermedad (Figura 3) (Thomazi, 2015). Esta respuesta puede estar relacionada con el mayor tiempo de exposición entre el agente antagonico y el patógeno en el sustrato, sin la presencia del hospedante, lo que genera una interacción competitiva por recursos específicos, como agua, nutrientes, espacio y luz (Thomazi, 2015). Además, estas condiciones pueden favorecer el micoparasitismo (Vinale et al., 2008), provocando una reducción en la densidad del inóculo de *R. bunodes*, debido a

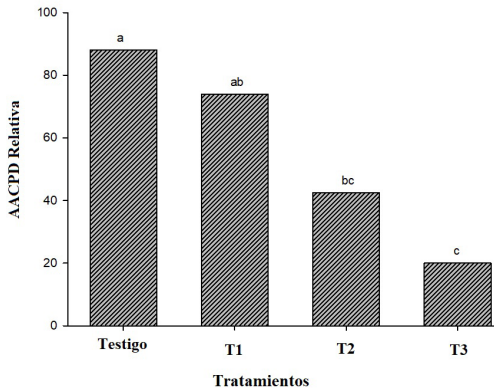


cambios en los factores determinantes de la enfermedad, como el crecimiento, la infectividad y la agresividad (Pariaud et al., 2009) y la reducción del potencial de inóculo.



**Figura 2.** Incidencia (%) de pudrición blanca de las raíces en plántulas de álamo sometidas a diferentes tratamientos: Testigo: plántulas sembradas en sustrato que contenía solo *R. bunodes*; Tratamiento 1: plántulas sembradas el mismo día de la adición al sustrato de *R. bunodes* y *T. asperellum*; Tratamiento 2: plántulas sembradas siete días después de la adición al sustrato de *R. bunodes* y *T. asperellum*; Tratamiento 3: plántulas plantadas 14 días después de la adición al sustrato de *R. bunodes* y *T. asperellum*. Las barras representan el error estándar. Colombo (PR), Brasil.

Fuente: Thomazi, 2015.

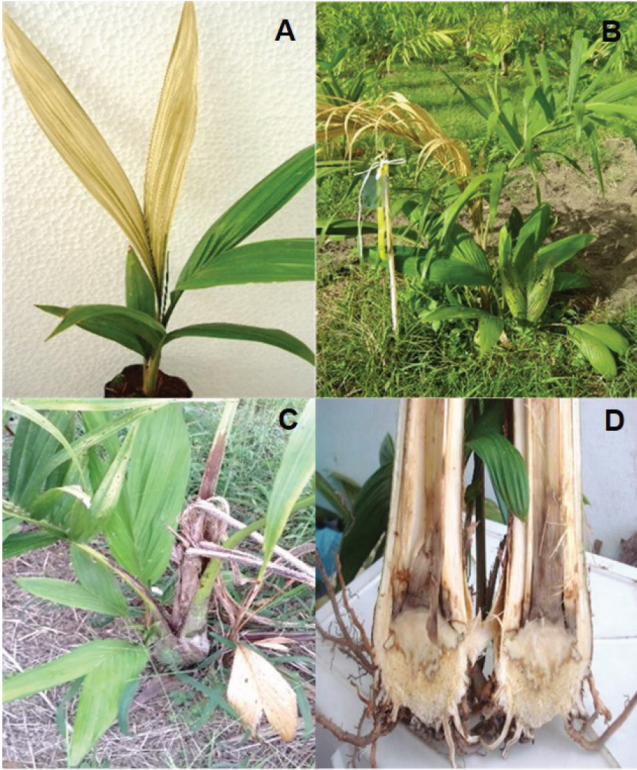


**Figura 3.** Área bajo la curva del progreso relativo de la enfermedad (AACPD) en plántulas de álamo plantadas en sustrato infestado con *R. bunodes* y *T. asperellum*. Control: plántulas plantadas en sustrato que contiene solo *R. bunodes*; Tratamiento 1: plántulas plantadas el mismo día de la adición de *R. bunodes* y *T. asperellum* al sustrato; Tratamiento 2: plántulas sembradas siete días después de la adición de *R. bunodes* y *T. asperellum* al sustrato; Tratamiento 3: plántulas plantadas 14 días después de la adición de *R. bunodes* y *T. asperellum* al sustrato. Colombo (PR), Brasil, 2014. \*Medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente entre sí de acuerdo con la prueba de Tukey con un nivel de probabilidad 5%. Colombo (PR), Brasil.

Fuente: Thomazi, 2015.

### **Pudrición de la base del tallo del chontaduro**

La pudrición de la base del tallo (PBT) causada por *P. palmivora* se presenta en plantas jóvenes y adultas de chontaduro (*Bactris gasipaes* Kunth. var. *gasipaes* Henderson), siendo frecuente en viveros y también en plantaciones establecidas (Santos et al., 2008). Las plantas enfermas están distribuidas de manera dispersa en las plantaciones y los síntomas se caracterizan por el marchitamiento y amarillamiento de la primera hoja abierta, seguido del amarillamiento y secado de las otras hojas, lo que puede causar la muerte de la planta madre y, en ocasiones, de los rebrotes y de toda la macolla. Al realizar cortes longitudinales y transversales de las plantas sintomáticas, es posible observar el oscurecimiento de los tejidos internos y pudrición generalizada del tallo (Santos et al., 2008) (Figura 4). Solo una especie de *Phytophthora* se ha asociado con la enfermedad, *P. palmivora* Butler Butler (1919) (Volpe, 2016). Hasta la fecha, no existen medidas de control curativas que sean efectivas para la PBT. Los genotipos comerciales no son resistentes (Fuzitani et al., 2018), así como el uso de fosfito de potasio ha demostrado ser efectivo solo cuando se aplica de forma preventiva (Fuzitani et al., 2013), mientras que hasta la fecha solo el control curativo usando fungicidas ha resultado ser prometedor (Moraes et al., 2011). Sin embargo, el chontaduro se destaca sobre todas las especies productoras de palmito, ya que permite su comercialización *in natura* y el sistema de producción requiere un bajo uso de productos químicos (Santos et al., 2008; Pentead Junior, et al., 2014). Por ello, una medida alternativa es el uso de control biológico con el hongo *Trichoderma*. En varios patosistemas (Teixeira et al., 2012; Nashwa et al. 2008; Lisboa et al., 2007) se ha reportado el éxito de este hongo antagonista.



Fotos: Eduardo Jun Fuzitani, Wilson da Silva Moraes.

**Figura 4.** Síntomas externos de pudrición de la base del tallo en plántulas de chontaduro (A) y en plantas jóvenes (B y C); síntomas internos en la base del tallo en plantas jóvenes en un corte longitudinal (D).

En chontaduro existen pocos estudios realizados con PBT (Fuzitani, 2018). Sin embargo, la investigación realizada por Fuzitani (2018) demostró el potencial de *Trichoderma* para el control en plántulas y plantas adultas bajo condiciones *in vitro*. En estudios *in vitro*, los aislados comerciales de *T. harzianum* y *T. asperellum* redujeron el crecimiento micelial de los aislados de *P. palmivora* de chontaduro hasta en un 94% (Fuzitani, 2018). Las aplicaciones preventivas de *T. harzianum* y *T. asperellum* proporcionaron una menor incidencia de la enfermedad y una mayor supervivencia de las plántulas, además del efecto adicional sobre la altura, el diámetro del cuello y el peso fresco de la raíz. En plantas adultas, las macollas sintomáticas tratadas con *Trichoderma* mostraron una reducción en la incidencia y severidad de la enfermedad (Fuzitani, 2018).

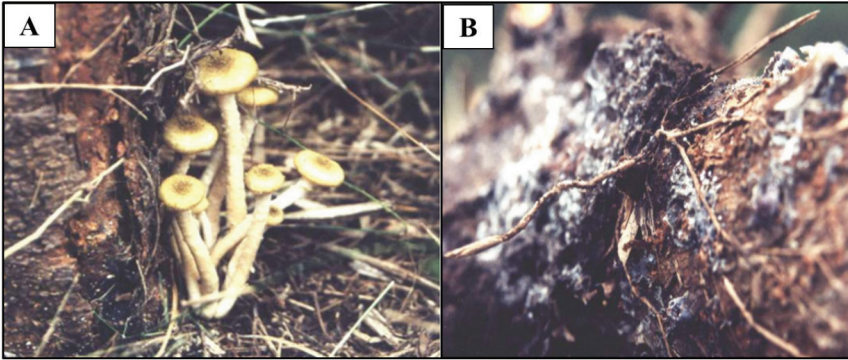
## Cancro resinoso del del pino

El cancro resinoso, enfermedad causada por *Armillaria* sp. es considerada la principal enfermedad en pinos (*Pinus* spp.) en Brasil (Auer; Santos, 2016) que fue reportada por primera vez en raíces de plántulas jóvenes de *Pinus elliottii* en los Estados de Paraná y Santa Catarina en 1961 (May, 1962). El agente causal es el hongo *Armillaria* (Fr.) Staude, un patógeno habitante del suelo que requiere cantidades significativas de sustrato energético para su supervivencia (Ferreira, 1989). Este basidiomiceto provoca la pudrición de la corteza, cuello y raíces de las plantas y es fácilmente diagnosticado por la exudación de resina que se solidifica en los órganos atacados. En la parte aérea, los síntomas se caracterizan por el amarillamiento general de la copa, seguido del bronceado y secado de las acículas, similar a lo que ocurre con otras pudriciones de raíz (Gomes, 2005). La muerte prematura de la planta ocurre solo cuando el sistema radicular está comprometido por la colonización del patógeno (Gomes, 2005). La severidad de la enfermedad es mayor en árboles debilitados por la acción de factores bióticos y abióticos, como malformación del sistema radicular y manejo inadecuado (Ivory, 1987).

El género *Armillaria* se caracteriza por la formación de basidiocarpos, que son cuerpos fructíferos que se forman en áreas adyacentes o sobre árboles muertos o restos de madera en descomposición (Gomes, 2005). Estas estructuras son responsables de la producción de basidiosporas que, al ser diseminadas por el viento, dan origen a la enfermedad (Figura 5A). La infección también puede ocurrir a través de la formación de micelio o rizomorfas (Figura 5B), presentes en restos de plantas leñosas como tocones, ramas o raíces (Ferreira, 1989). La temperatura óptima de crecimiento micelial para este patógeno es de alrededor de 25 °C (Rishbeth, 1968). Por otro lado, el desarrollo de las rizomorfas ocurre a los 22 °C (Gomes, 2005).

Se han descrito treinta y cinco especies de *Armillaria* (Volk; Burdsall, 1995; Kirk et al., 2008), de las cuales 10 se encuentran en Centro y Sur América (Pegler, 2000). La distribución geográfica de este hongo está restringida a lugares con temperaturas fresca y con una distribución más restringida en regiones con clima subtropical (Rishbeth, 1968; Rishbeth, 1978). El género *Armillaria* tiene una amplia gama de géneros de plantas forestales como hospedantes (*Abies*, *Acacia*, *Acer*, *Alnus*, *Araucaria*, *Betula*, *Castanea*, *Chamaecyparis*, *Criptomeria*, *Cupressus*, *Fagus*, *Juglans*, *Juniperus*, *Larix*, *Libocedrus*, *More*, *Platanus*, *Pinus*, *Populus*, *Pseudotsuga*, *Quercus*, *Robinia*, *Sequoia*, *Thuya* y *Tsuga*), así como también ha sido reportado en varios árboles frutales (ciruelo, plátano, cereza, cítricos, manzano, nogal, olivo, peral y vid) y ornamentales (rododendro y azalea) (Auer et al., 2004). En Brasil, *Armillaria* sp. se ha encontrado en *Pinus* spp., *Araucaria* sp. y *Eucalyptus* sp., en los estados de las regiones Sur y Sudeste (Auer; Santos, 2016). El cancro resinoso del pino puede afectar tanto a plantas jóvenes de pino (menos de 5 años) como a árboles maduros (mayores de 15 años), comprometiendo todo el ciclo productivo (Gomes, 2005).

El control del cancro resinoso en *Pinus* spp. se basa en prácticas de erradicación, como corte de tocones y recolección de restos vegetales, con el fin de minimizar la cantidad de inóculo presente en el área para el siguiente período de siembra (Ivory, 1987). Sin embargo, el uso de estas técnicas de limpieza requiere de mucho tiempo, lo que lo hace costoso y de difícil aplicación en lugares con topografía irregular. Ante esto, el control biológico surge como una alternativa de control (Fox, 2000; Valdebenito-Sanhueza, 2003).



Fotos: César García Auer

**Figura 5.** A) Basiocarpas de *Armillaria* sp. formados en árboles muertos de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. B) Rizomorfas externas de *Armillaria* sp., sobre corteza de árbol listas para su diseminación por el suelo.

Gomes; Auer (2003), al evaluar el antagonismo *in vitro* de *T. viride* y *Armillaria* sp., reportó que, aunque *T. viride* demostró una rápida colonización del micelio de *Armillaria* a través del micoparasitismo, no fue posible observar una reducción significativa en la biomasa seca del patógeno al final del experimento. Según Aytoun (1953) citado por Raziq (2000), el grado de micoparasitismo *in vitro* de *Armillaria* por *Trichoderma* puede variar según el pH del medio. Los rangos de pH más ácidos (pH 3,4) favorecieron el micoparasitismo entre estas especies, sin embargo, a pH más cercano a la neutralidad (pH 7,0) inhibieron el antagonismo.

En ensayos de campo, hay varios ejemplos de control integrado (químico + biológico) de *Armillaria* citados en la literatura. Munnecke et al. (1973) verificaron que la fumigación con bisulfito de carbono y bromuro de metilo redujo el crecimiento de *Armillaria*, por otro lado, *T. viride* demostró ser más tolerante a los químicos y más adaptable a las condiciones ambientales adversas al patógeno, pudiendo desarrollar una acción antagónica contra *Armillaria* (Munnecke et al., 1981). Gomes (2005) demostró una reducción en el avance de el cancro resinoso en plantaciones de pino jóvenes (menores de dos años) utilizando granos de trigo colonizados por *T. viride* en asociación con la aplicación de formaldehído (2%). *T. viride* también mostró capacidad

antagónica al crecimiento de *Armillaria* en segmentos de raíz fumigados artificialmente con bisulfito de carbono (Bliss, 1951 citado por Gomes, 2005). El mismo autor también confirma que el patógeno fue eliminado, no por la acción fungicida del producto químico, sino por el aumento de la población de *Trichoderma* sp. en el suelo. En resumen, se debe estimular a los hongos antagonistas para que aumenten su población y se establezcan en el suelo tratado, convirtiéndose en probables agentes de biocontrol contra microorganismos fitopatógenos (Raziq, 2000).

### Fusariosis en yerba mate

La fusariosis, causada por *Fusarium* spp., es la principal enfermedad de la yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) en Brasil. Las especies más frecuentes son *F. oxysporum* Schlecht. y *F. solani* (Mart.) Sacc., junto con *F. tricinctum* (Corda) Sacc., aunque esta última es menos frecuente. Los síntomas mostrados en la parte aérea se caracterizan por un amarillamiento y caída excesiva de hojas, estancamiento del crecimiento, muerte parcial y, en casos más severos, muerte prematura de la planta (Poletto et al., 2006; Poletto et al., 2007). La pudrición de la raíz puede ocurrir tanto en semilleros como en plántulas recién plantadas, lo que comúnmente se denomina *damping-off* en pre y postemergencia (Poletto et al., 2005; Poletto et al., 2006; Poletto et al., 2007). Si no es controlada, la enfermedad puede manifestarse en forma agregada, alcanzando áreas más grandes en la plantación (Poletto, 2010).

El hongo mitospórico *Fusarium* spp. se considera un habitante del suelo y está presente en las más distintas regiones geográficas, principalmente en regiones tropicales y subtropicales (Burgess et al., 1996) y puede sobrevivir por largos períodos en forma de clamidosporas (Milanesi, 2009). Debido a la diversidad relacionada con sus atributos fisiológicos, morfológicos y ecológicos, el género *Fusarium* es conocido por su amplia variabilidad genética (Burgess et al., 1996; Oliveira; Costa, 2002) que puede causar enfermedades en varias especies de plantas hospedantes de importancia económica, como como granos (muerte súbita en soya causada por *F. solani*, *Giberella* en trigo y maíz causada por diferentes miembros del complejo de especies *F. graminearum* (FGSC), frutales (Mal de Panamá en bananos causada por *F. oxysporum* f. sp. *cubense*; malformación del mango causada por *F. mangiferae*) y cultivos de hortalizas (marchitamiento por fusarium en tomate causado por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) (Michereff et al., 2005). En especies forestales, este patógeno es responsable de diversos tipos de pudrición de raíces, causando síntomas característicos del *damping off* en pre y postemergencia y reducción de la germinación de semillas en viveros de coníferas (Martín-Pinto et al., 2008), como pino (Maciel et al., 2013).

Las especies de *Fusarium* producen macroconidios hialinas, generalmente septadas, las cuales pueden presentarse en diferentes formas: ovaladas, reniformes, ovoides, con base



truncada, piriformes, napiformes o globosas. Las clamidosporas pueden estar presentes o ausentes (Hawksworth et al., 1995). La temperatura óptima para el crecimiento micelial de este patógeno es alrededor de 25 °C en luz continua, mientras que la esporulación ocurre a 30 °C en la oscuridad (Singh et al., 2017). Las áreas con alta incidencia lumínica, alto contenido de materia orgánica en el suelo y exceso de humedad favorecen la población de *Fusarium* spp., agravando la enfermedad (Poletto, 2008).

El manejo preventivo de la fusariosis en yerba mate se basa en la desinfección del sustrato y el drenaje de los terrenos, para evitar la acumulación de agua en el suelo. La eliminación de plántulas sintomáticas también se utiliza como una forma de contener la propagación del patógeno. Después de la detección de la enfermedad en campo, Grigoletti; Auer (1996) reportaron que el control químico resultaba ineficiente.

En experimentos *in vitro*, Poletto (2008) concluyó que *Trichoderma* sp. fue eficiente en la supresión de *Fusarium* sp., al impedir casi por completo el crecimiento del patógeno. Sin embargo, en experimentos de biocontrol en plantaciones de yerba mate contaminadas por fusariosis, se verificó que la introducción de productos comerciales a base de *Trichoderma* en el suelo no era eficiente en el establecimiento de una población antagonista significativa para la supresión del patógeno. Algunas hipótesis que explican el fracaso del tratamiento fueron planteadas por el autor, tales como la viabilidad y adaptación del antagonista al medio donde fue inoculado (pH, nutrientes, temperatura y humedad desfavorables al agente benéfico), la presencia de exudados de raíz de yerba mate y la baja frecuencia de las inoculaciones de *Trichoderma* en la zona. Es necesario realizar estudios adicionales para mejorar el conocimiento sobre el comportamiento antagonista en el entorno de producción de yerba mate.

### **Cancro de la teca**

Las principales enfermedades que afectan al cultivo de la teca son la roya (*Olivea tectonae*), la marchitez por ceratocystis (*Ceratocystis fimbriata*) y el cancro de la teca causada por *Lasiodiplodia theobromae* (Caldeira et al., 2014; Borges et al., 2018).

*L. theobromae* es un fitopatógeno cosmopolita, polífago y oportunista con poca especialización patógena (Punithalingam, 1980). Además de la teca, *L. theobromae* ataca a otras especies perennes, como el cacao, el eucalipto, el mango y los árboles de caucho, causando síntomas de marchitez, cancro, pudrición basal del fruto y del tronco, secado, muerte de ramas y muerte de la planta (Cardoso et al., 1998).

El control químico para este tipo de enfermedad es ineficiente cuando es usado como única opción, por lo que requiere de la adopción de otras medidas de control para el manejo de la enfermedad. Debido a esto, Borges et al. (2018) evaluaron el efecto *in vitro* e *in vivo* de varios *Trichoderma* spp. en el control del cancro de la teca. En la prueba *in vitro*, los aislados

de *Trichoderma* spp. inhibieron el crecimiento micelial de algunos aislados de *L. theobromae*. Cuando estos aislamientos se evaluaron preventivamente *in vivo*, se observó una variación en los niveles de control, según el aislamiento de *L. theobromae* y la interacción antagonista-clon. Es necesario llevar a cabo nuevas investigaciones para dilucidar estas preguntas.

### **Damping off en eucalipto**

*Damping off* en eucalipto, causada por el hongo *Rhizoctonia solani* Kühn (*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk) es uno de los principales patógenos que se presentan en cultivos de eucalipto (*Eucalyptus* spp.). La enfermedad se inicia en las hojas de ramas rastreras, a través del crecimiento de micelio epífita a partir de un suelo infestado. Posteriormente, ataca las hojas de las ramas superiores, provocando un aspecto de quemado ascendente en la copa (Kunieda-Alonso et al., 2005). Las plántulas producidas por esquejes en un invernadero son vulnerables a la incidencia de *R. solani*, que provoca la pudrición de los esquejes durante el enraizamiento (Sanfuentes et al., 2002).

Actualmente no existen fungicidas registrados para el control de *R. solani* en cultivos de eucalipto. Además, los fungicidas tienen una baja eficiencia de control, lo que imposibilita su uso en la propagación clonal de *Eucalyptus* spp. (Silveira, 1996). Por lo tanto, los estudios de control biológico que utilizan especies de *Trichoderma* pueden ser prometedores.

El efecto de la incorporación de aislados antagonistas y corteza y hojas de eucalipto al suelo de un vivero clonal, con el objetivo de suprimir *Rhizoctonia* spp. fue evaluado para buscar el control del *damping off*. *T. inhamatum* y algunos tipos de compuestos de corteza de eucalipto tienen potencial para usarse en la supresión de *Rhizoctonia* spp. en suelos de viveros clonales de eucalipto (Sanfuentes et al., 2002). Se evaluó un sistema para encapsular *T. inhamatum* en gránulos de alginato de sodio para el control de enfermedades en esquejes/miniesquejes de *Eucalyptus* spp. para enraizamiento. Los resultados obtenidos demostraron el efecto del antagonista *T. inhamatum* en la supresión de la actividad saprofita de *R. solani*. Hubo una amplia variación en el nivel de supresión en respuesta a diferentes fuentes de alimentos en la formulación, siendo la aplicación de *Trichoderma* spp. en gránulos de alginato de sodio que contenía salvado de trigo como fuente de alimento en una concentración de 50 a 60 g/l y aplicado para permitir al menos 18 días de competencia una excelente forma de control biológico de *R. solani* (Mafia et al., 2003). Se evaluó la supervivencia del micelio y esclerocios de *R. solani* en residuos de cosecha de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) y la eficiencia de algunos aislados de *T. longibrachiatum* y *T. inhamatum*, antagonistas probados de *R. solani*, en la reducción de la supervivencia del patógeno en condiciones de campo. Los resultados fueron prometedores, ya que los aislamientos de *Trichoderma* spp. no interfirieron con la supervivencia de *R. solani* en hojas de eucalipto infectadas, sin embargo, redujeron la



viabilidad de los esclerocios del patógeno, equiparándose al tratamiento con fungicida captan + cloro (Kunieda-Alonso et al., 2005).

### **Mancha foliar por *Cylindrocladium* em *Eucalyptus***

Mancha foliar por *Cylindrocladium*, causada por el hongo *Cylindrocladium* spp. se ha observado en plantaciones comerciales y viveros de plántulas clonales de eucalipto al norte al sur de Brasil. El patógeno tiene la capacidad de sobrevivir como saprofito en el suelo en forma de esclerocios, siendo propagado por salpicaduras de lluvia que alcanzan hojas y ramas en el tercio inferior de la copa de los árboles (Ferreira, 1989; (Alfenas, 2009).

Esta enfermedad es favorecida por condiciones de altas temperaturas, alrededor de 26 °C y humedad relativa superior al 80% (Alfenas, 2009). Los síntomas se caracterizan por lesiones necróticas oscuras, circulares y alargadas que se inician en el ápice de la lámina foliar y progresan hacia la nervadura principal (Santos et al., 2001). Los signos del patógeno (conidióforos y conidios) se encuentran en la superficie abaxial de las hojas, representados por un crecimiento blanquecino en estas áreas (Alfenas, 2009). A medida que avanza la enfermedad, puede ocurrir una defoliación severa (Santos et al., 2001).

El uso de antagonistas biológicos como *Trichoderma* spp. ha mostrado buenos resultados en el control de la mancha foliar por *Cylindrocladium* en eucalipto. Maciel et al. (2012) probaron la eficiencia *in vitro* de bioprotectores comerciales y *Trichoderma* spp. y evaluó la acción *in vivo* de bioprotectores comerciales en el control de *C. candelabrum* en plántulas de *Eucalyptus saligna*. Estos autores concluyeron que el producto comercial Trichodel mostró un desempeño satisfactorio en pruebas de confrontación directa y supresión de manchas foliares en hojas desprendidas, así como resultados positivos en la reducción del daño causado por el hongo a plántulas de *E. saligna* en vivero. Carvalho Filho et al. (2008b) también observaron que *Trichoderma* spp. redujo el crecimiento *in vitro* de *C. scoparium*, demostrando que el uso de biocontrol puede ser una herramienta importante en el control de enfermedades de plantas en el sector forestal.

### **Tratamiento de semillas de pino para el control de *Fusarium***

La demanda de semillas y plántulas forestales está en aumento, ya que constituyen un insumo básico en programas de recuperación y/o conservación de ecosistemas y reforestación con fines comerciales (Santos et al., 2011). También es necesario conocer y controlar los patógenos transmitidos por las semillas, que pueden causar daños en la producción de plántulas y la propagación de patógenos a nuevas áreas (Santos et al., 2011). Entre las formas de control existentes, es relevante el uso de agentes de biocontrol contra patógenos asociados a las semillas, que pueden alcanzar una gran efectividad (Whipps, 2001), lo cual es de gran

interés, ya que se carece de productos químicos registrados para cultivos forestales (Santos et al., 2011).

Carmo (2017), demostró que *T. atroviride* inhibía el crecimiento micelial de *Fusarium* spp. y promovió el crecimiento inicial de plántulas de pino a partir de semillas microbiolizadas. En los ensayos *in vitro* realizados por Carmo (2017) en confrontación entre *Trichoderma* sp. y *Fusarium* spp., el antagonista fue capaz de inhibir hasta el 78% del crecimiento micelial de *F. meridionale*, el 68,4% de los aislados del complejo *F. fujikuroi* y el 71,5% de *F. oxysporum*.

Los parámetros de crecimiento de plántulas, el diámetro del cuello y la relación entre el diámetro del cuello y la longitud de la parte aérea fueron mejores en las plántulas de *P. taeda* y *P. elliottii* de semillas tratadas con *T. atroviride*. Estas plántulas mostraron un incremento en la longitud de la parte aérea, diámetro de cuello y en la relación longitud de la parte aérea y diámetro de cuello, demostrando el potencial para el uso de estos microorganismos (Carmo, 2017). Con relación al modo de acción de la especie *T. atroviride*, se atribuye la capacidad de producción y degradación del ácido indolacético (IAA) (Gravel et al., 2007; Carvalho Filho et al., 2008a).

### Consideraciones finales

El biocontrol de fitopatógenos es una herramienta poco utilizada en las plantaciones forestales, sin embargo, puede considerarse una alternativa a las prácticas tradicionales de control. La aplicación de agentes antagonistas en lugares con incidencia de enfermedades causadas por patógenos que habitan el suelo puede considerarse una opción para reducir el potencial de inóculo en estas áreas.

En cuanto al tratamiento de semillas de especies forestales, los estudios demuestran la posibilidad del uso en la producción masiva de plántulas en condiciones de vivero, mejorando la calidad de las plántulas y, en consecuencia, influyendo en su capacidad para sobrevivir en condiciones adversas.

El desarrollo inicial de las plántulas es una fase sensible en la que estas están más expuestas a los patógenos. Así, la presencia de *Trichoderma* spp. puede incidir positivamente en el crecimiento inicial de las plántulas, proporcionando plántulas más vigorosas y, en consecuencia, menos susceptibles al ataque de patógenos.

Ante esta situación, es necesario realizar más estudios, como forma de promover la maximización del uso del biocontrol en el sector forestal, ya que la información sobre los resultados del uso de *Trichoderma* spp. en el control de enfermedades en campo son aún escasos en la literatura nacional e internacional.

## Referencias

- ALFENAS, R. F. **Produção de inóculo de *Cylindrocladium pteridis* em condições controladas**. Viçosa, 2009. 36 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ARANZAZU, F.; CÁRDENAS, J.; MUJICA, J.; GÓMEZ, R. **Manejo de las llagas radicales (*Rosellinia* sp.)**. Santa Fé de Bogotá: ICA, 1999. (Boletín de Sanidad Vegetal).
- AUER, C. G.; GOMES, N. S. B.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. A. **Armilariose em pinus no Brasil**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 5 p. (Embrapa Florestas. Comunicado Técnico, 117).
- AUER, C. G.; GRIGOLETTI A. J. **Doenças registradas em *Araucária angustifolia* e *Pinus* spp. nos estados do Paraná e de Santa Catarina**. Colombo: Embrapa Florestas, 1997. 3 p. (Embrapa Florestas. Pesquisa em andamento, 31).
- AUER, C. G.; SANTOS, A. F. Doenças dos pinheiros. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Org.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, p. 595-602.
- BORGES, R. C. F.; MARQUES, E.; MACEDO, M. A.; MARTINS, I.; SILVA FILHO, J. G.; MELLO, S. C. M. Biocontrol of teak canker caused by *Lasiodiplodia theobromae*. **Revista Árvore**, v. 42, n. 3, p. 1-9, 2018.
- BURGESS, L. W.; SUMMERELL, B. A.; BACKHOUSE, D.; BENYON, F.; LEVIC, J. Biodiversity and population studies in *Fusarium*. **Sydowia**, v. 48, n. 1, p. 1-11, 1996.
- CALDEIRA, S. F.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Doenças da teca. In: GASPAROTTO, L.; BENTES, J. L. S.; PEREIRA, J. C. R. **Doenças de espécies florestais arbóreas nativas e exóticas na Amazônia**. Brasília: Embrapa Florestas, 2014. p. 171-194.
- CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. C. O.; SÁ, F. T. Disseminação e controle de resinose em troncos de cajueiro decepados para substituição de copa. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 48-50, 1998.
- CARMO, A. I. ***Fusarium* em sementes de pinus no Brasil: distribuição, patogenicidade, identificação de espécies e controle biológico**. 2017. 89 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- CARVALHO FILHO, M. R.; MELLO, S. C. M. de; SANTOS, R. P. dos; MENÉZES, J. E. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008a. 16 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 226).
- CARVALHO FILHO, M. R.; MENÉZES, J. E.; MELLO, S. C. M. de; SANTOS, R. P. dos. **Avaliação de isolados de *Trichoderma* no controle da mancha foliar do eucalipto in vitro e quanto a esporulação em dois substratos sólidos**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008b. 22 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 225).
- FERREIRA, F. A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: SIF, 1989. 570 p.
- FOX, R. T. V. Biology and life cycle. In: FOX, R. T. V. (Ed.) ***Armillaria* root rot: biology and control of honey fungus**. Andover: CABI, 2000, p. 1-42.
- FUZITANI, E. J.; SANTOS, A. F.; DAMATTO JUNIOR, E. R.; NOMURA, E. S.; KALIL FILHO, A. N. Inoculation methods, aggressiveness of isolates and resistance of peach palm progenies to *Phytophthora palmivora*. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 3, p. 213-217, 2018.
- FUZITANI, E. J. **Controle Biológico da podridão da base do estipe (*Phytophthora palmivora*) em pupunheira com espécies de *Trichoderma***. 2018. 112 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- FUZITANI, E. J.; SANTOS, A. F.; MORAES, W. S.; DAMATTO JUNIOR, E. R.; NOMURA, E. S. Eficiência de fosfitos no controle da podridão da base do estipe em mudas de pupunheira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1000-1006, 2013.
- GOMES, N. S. B. **Armilariose em *Pinus elliotii*: etiologia, determinação de danos e medidas de controle, nos estados do Paraná e de Santa Catarina**. 2005. 96 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)-Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- GOMES, N. S. B.; AUER, C. G. Potencial antagonístico de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* sp. in vitro contra *Armillaria* sp. **Summa Phytopathologica**, v. 29, n. 1, p. 61-62, 2003.
- GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R. J. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, p. 1968-1977, 2007.

- GRIGOLETTI, A. J.; AUER, C. G. **Doenças da erva-mate**: identificação e controle. Colombo: Embrapa Florestas, 1996. 18 p. (Embrapa Florestas. Circular Técnica, 25).
- HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, P. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. N. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**. Oxon: CAB International, 1995. 650 p.
- HOOPEN, G. M. T.; KRAUSS, U. Biology and control of *Rosellinia bunodes*, *Rosellinia necatrix* and *Rosellinia pepo*: A review. **Crop Protection**, v. 25, n. 2, p. 89-107, 2006.
- IBÁ - INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES, 2017. **Relatório 2017**. Disponível em: <[https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA\\_RelatorioAnual2017.pdf](https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf)>. Acesso em: nov. 2018.
- IVORY, M. H. **Diseases and disorders of pines in the tropics**: a field and laboratory manual. Oxford: Oxford Forest Institute, 1987. 92 p.
- KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, D. W.; STALPERS, J. A. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**. Wallingford: CABI, 2008. 771 p.
- KLEINA, H. T.; SANTOS, A. F.; DUARTE, H. S. S.; MACHADO, E. B. Physiological characterization of *Rosellinia bunodes* and symptomatology of *Rosellinia* root rot in poplar seedlings. **Revista Árvore**, v. 41, n. 1, p. 1-9, 2018.
- KUNIEDA-ALONSO, S.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A. Sobrevivência de micélio e escleródios de *Rhizoglyphus solani* tratados com *Trichoderma* spp., em restos de cultura de *Eucalyptus* sp. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 164-168, 2005.
- LISBOA, B. B.; BOCHESE, C. C.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, J. R. P.; RADIN, B.; OLIVEIRA, A. M. R. Eficiência de *Trichoderma barzilianum* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Revista Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1255-1260, 2007.
- MACIEL, C. G.; LAZAROTTO, M.; MEZZOMO, R.; POLETTTO, I.; MUNIZ, M. F. B.; LIPPERT, D. B. *Trichoderma* spp. no biocontrole de *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus saligna*. **Revista Árvore**, v. 36, n. 5, p. 825-832, 2012.
- MACIEL, C. G.; MUNIZ, M. F. B.; MILANESI, P. M.; LAZAROTTO, M.; BLUME, E.; HARAKAVA, R.; REINIGER, L. R. S.; HAMANN, F. A. First report of *Fusarium sambucinum* associated on *Pinus elliottii* seeds in Brazil. **Plant Disease**, v. 97, n. 7, p. 995, 2013.
- MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; VENTURA, G. M.; SANFUENTES, E. A. Encapsulamento de *Trichoderma inhamatum* para o controle biológico de *Rhizoglyphus solani* na propagação clonal de *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 101-105, 2003.
- MARTÍN-PINTO, P.; PAJARES, J.; DíEZ, J. Pathogenicity of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium oxysporum* on *Pinus nigra* seedlings in northwest Spain. **Forest Pathology**, v. 38, n. 2, p. 78-82, 2008.
- MAY, L. C. Uma armilariose em *Pinus elliottii* engel. **Silvicultura em São Paulo**, v. 1, n. 1, p. 71-84, 1962.
- MAY-DE-MIO, L. L.; SANTOS, A. F.; AMORIM, L. Doenças do álamo. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Org.). **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, p. 23-27.
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. 398 p.
- MILANESI, P. M. **Caracterização, toxicidade e patogenicidade de Fusarium spp. em genótipos de soja em sistema de plantio direto**. 2009. 91 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- MORAES, W. S.; FUZITANI, E. J.; SANTOS, A. F. Aspectos fitossanitários do cultivo da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) no Vale do Ribeira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DA PUPUNHEIRA, 1, 2011, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 2011.
- MUNNECKE, D. E.; KOLBEZEN, M. J.; WILBUR, W. D.; OHR, H. D. Interactions involved in controlling *Armillaria mellea*. **Plant Disease**, v. 65, n. 5, p. 384-389, 1981.
- MUNNECKE, D. E.; WILBER, W. D.; DARLET, E. F. Effects of methyl bromide or carbon disulfide on *Armillaria* and *Trichoderma* growing on agar medium and relation to survival of *Armillaria* in soil following fumigation. **Phytopathology**, v. 63, p. 1352-1357, 1973.
- NASHWA, M. A.; SALLAM, K. A. M.; ABO-ELYOUSR; HASSAN, M. A. E. Evaluation of *Trichoderma* species as biocontrol agents for damping-off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and efficacy of suggested formula. **Egyptian Journal Phytopathology**, v. 36, p. 81-93, 2008.
- OLIVEIRA, V. C.; COSTA, J. L. S. Análise de restrição de DNA ribossomal amplificado (ARDRA) pode diferenciar *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* de *F. solani* f. sp. *glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 6, p. 631-634, 2002.

- PARIAUD, B.; RAVIGNÉ, V.; HALKETT, F.; GOYEAU, H.; CARLIER, J.; LANNOU, C. Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. **Plant Pathology**, v. 58, n. 3, p. 409-429, 2009.
- PASINI, L.; PRODORUTTI, D.; PASTORELLI, S.; PERTOT, I. Genetic diversity and biocontrol of *Rosellinia necatrix* infecting apple in Northern Italy. **Plant Disease**, v. 100, n. 2, p. 444-452, 2016.
- PEGLER, D. N. Taxonomy, nomenclature and description of *Armillaria*. In: FOX, R. T. V. (Ed.). **Armillaria root rot: biology and control of honey fungus**. Andover: Intercept Press, 2000. p. 81-93.
- PENTEADO JÚNIOR, J. F.; SANTOS, A. F.; NEVES, E. J. M. **Aspectos do agronegócio do palmito de pupunha no Brasil**. Colombo: Embrapa Florestas, 2014. 21 p.
- POLETTI, I. **Caracterização e manejo do patossistema erva-mate/podridão-de-raízes**. 2010. 101 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)- Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- POLETTI, I. **Nutrição, sombreamento e antagonismo biológico no controle da podridão-de-raízes da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill)**. 2008. 123 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)- Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- POLETTI, I.; CECONI, D. E.; MUNIZ, M. F. B. Ocorrência de *Fusarium* sp. causando mortalidade de mudas de erva-mate em viveiro na região alta do Vale do Taquari, RS. In: SEMINÁRIO SOBRE REFLORESTAMENTO E RECUPERAÇÃO AMBIENTAL, 1., 2005, Lajeado. **Ambiente e tecnologia: o desenvolvimento sustentável: anais**. Lajeado: UNIVATES, 2005. p. 126-132.
- POLETTI, I.; MUNIZ, M. F. B.; CECONI, D. E.; SANTIN, D.; WEBER, M. N. D.; BLUME, E. Zoneamento e identificação de *Fusarium* spp. causador de podridão-de-raízes em plantios de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) na região do Vale do Taquari-RS. **Ciência Florestal**, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2006.
- POLETTI, I.; MUNIZ, M. F. B.; CECONI, D. E.; WEBER, M. N. D.; BLUME, E. Primeira ocorrência de *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp. causando podridão-de-raízes em erva-mate no Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 17, n. 1, p. 65-71, 2007.
- PUNTHALINGAM, E. **Plant diseases attributed to *Botryodiplodia theobromae***. Vaduz: Pat. J. Cramer, 1980. 123 p.
- RAZIQ, F. Biological and integrated control of *Armillaria* root rot. In: FOX, R. T. V. (Ed.). **Armillaria root rot: biology and control of honey fungus**. Andover: Intercept Limited, 2000. p. 183-201.
- RISHBETH, J. Effects of soil temperature and atmosphere on growth of *Armillaria* rhizomorphs. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 70, n. 2, p. 213-220, 1978.
- RISHBETH, J. The growth rate of *Armillaria mellea*. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 51, n. 3-4, p. 575-586, 1968.
- RUANO-ROSA, D.; DEL MORAL NAVARRETE, L.; LOPEZ HERRERA, C. J. Selection of *Trichoderma* spp. isolates antagonistic to *Rosellinia necatrix*. **Spanish Journal of Agriculture Research**, v. 8, n. 4, p. 1084-1097, 2010.
- SACCAS, A. M. Les *Rosellinia* des caféiers en Oubangui-Chari. **L'Agronomie Tropicale**, v. 11, n. 551-595, p. 353-367, 1956.
- SANFUENTES, E. A.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A.; SILVEIRA, S. F.; PENCHEL, R.; SARTORIO, R. C. Supressão da atividade saprofítica de *Rhizoctonia* spp. em solos de jardim clonal de *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 5, p. 461-467, 2002.
- SANTOS, A. F.; TESSMANN, D. J.; VIDA, J. B. Doenças das palmeiras para palmito. In: SANTOS, A. F.; CORRÊA JÚNIOR, C.; NEVES, E. J. M. **Palmeiras para produção de palmito - juçara, pupunheira e palmeira real**. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. p. 106-120.
- SANTOS, A. F.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JR, A. **Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle**. Colombo: Embrapa Florestas, 2001. 20 p.
- SANTOS, A. F.; THOMAZI, H.; DUARTE, H. S. S.; MACHADO, E. B.; TESSMANN, D. J. First report of root rot caused by *Rosellinia bunodes* on a poplar species (*Populus deltoides*) in Brazil. **Plant Disease**, v. 101, n. 4, p. 642, 2017.
- SANTOS, A. F.; PARISI, J. J. D.; MENTEN, J. O. M. **Patologia de sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2011. 236 p.
- SCOLFORO, J. R. S.; FERRAZ FILHO, A. C. A expansão florestal brasileira. In: **NÚCLEO DE ESTUDOS EM FITOPATOLOGIA. (Org.) Patologia florestal: desafios e perspectivas**. São Carlos: Suprema Gráfica e Editora, 2013. p. 19-33.

- SILVEIRA, S. F. **Etiologia e controle da mela de estacas e da queima de folhas de eucalipto, causada por *Rhizoctonia* spp.** 1996. Tese (Doutorado em Fitopatologia)- Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- SINGH, S.; RANI, U.; TIWANA, U. S.; SIGNH, D. P.; ASMITA, S. Investigation of optimum conditions for the growth of *Fusarium solani* EGY1 causing root rot of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). **Journal of Applied and Natural Science**, v. 9, n. 4, p. 2249–2254, 2017.
- SIVANESAN, A.; HOLLIDAY, P. ***Rosellinia necatrix*. Description of pathogenic fungi and bacteria.** Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1972. 351 p.
- SZTEJNBERG, A.; FREEMAN, S.; CHET, I.; KATAN, J. Control of *Rosellinia necatrix* in soil and in apple orchard by solarization and *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, v. 71, n. 1, p. 365-369, 1987.
- TEIXEIRA, H.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F.; SILVA, M. B.; FERRO, C. G.; LEHNER, M. S. *Trichoderma* spp. decrease *Fusarium* root rot in common bean. **Summa Phytopathologica**, v. 3, n. 4, p. 334-336, 2012.
- THOMAZI, H. **Caracterização morfofisiológica, sintomatológica, patogenicidade e biocontrole de *Rosellinia bunodes* em álamo.** 2015. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Estratégias de controle das armilarioses. In: SEMINÁRIO SOBRE A ARMILARIOSE EM PINUS SPP., 1., 2003, Curitiba. **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1 CD-ROM.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; WOO, S. L.; LORITO, M. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-10, 2008.
- VOLK, T. J.; BURDSALL JR, H. H. **A nomenclatural study of *Armillaria* and *Armillariella* species (Basidiomycotina, Tricholomataceae).** Oslo: Fungiflora, 1995. 121 p. (Synopsis Fungorum, 8).
- VOLPE, H. L. **Caracterização morfofisiológica e molecular de *Phytophthora palmivora* da pupunheira.** 2016. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- WATERSTON, J. M. Observations on the parasitism of *Rosellinia pepo* Pat. **Tropical Agriculture**, v. 18, p. 174-184, 1941.
- WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 1, p. 487-511, 2001.

# Embrapa

## Soja

COLABORACIÓN



MINISTERIO DE  
AGRICULTURA, GANADERÍA  
Y ABASTECIMIENTO

