



Evaluación de la capacidad biocontroladora de cepas nativas de *Trichoderma* spp sobre *Rhizoctonia* sp y *Fusarium* sp en café (*Coffea arabica*) en condiciones experimentales

Evaluation of biocontrol ability of native strains of *Trichoderma* spp on *Rhizoctonia* and *Fusarium* sp in coffee (*Coffea arabica*) in experimental conditions

Nina Rudy^{1*}, Smeltekop Hugh¹, Almanza JC¹, Loza-Murguía Manuel^{1,2}

Datos del Artículo

¹Universidad Católica Boliviana San Pablo-UCB, Unidad Académica Campesina Carmen Pampa-UAC-CP, Ingeniería Agronómica, Coroico - Nor Yungas - La Paz, Bolivia. 591 (2) 8781991.

²Departamento de Enseñanza e Investigación en Bioquímica & Microbiología-DEI&BM, Unidad Académica Campesina Carmen Pampa-UAC-CP.

*Dirección de contacto: Campus Leahy...Unidad Académica Campesina Carmen Pampa, Coroico, La Paz Bolivia Casilla 4242 Tel.: 591 (2) 8781991. E-mail address: Daniel.rudynina@hotmail.com

Palabras clave:

Rhizoctonia, *Fusarium*, *Trichoderma*, damping off, hongos patógenos, biocontrol.

J Selva Andina Res Soc.
2011; 2(1):43-52.

Historial del artículo.

Recibido Enero 20, 2011.
Aceptado Julio 03, 2011.
Disponible en línea Julio 2011.

Key words:

Rhizoctonia, *Fusarium*, *Trichoderma*, damping off, pathogenic fungi, biocontrol.

Resumen

Debido al uso indiscriminado agroquímicos, en la agricultura convencional, se esta provocando problemas de contaminación del medio ambiente (suelo, aire y agua), de ahí que, la búsqueda de alternativas que contribuyan a una producción agrícola libre de agroquímicos haciendo sostenible la producción. En este trabajo se estudia el control biológico del damping off en café (*Coffea arabica*) aplicando el hongo antagonístico *Trichoderma* sp., en condiciones experimentales a escala de laboratorio, en instalaciones de la Unidad Académica Campesina Carmen Pampa, comunidad de Carmen Pampa, municipio de Coroico.

El objetivo de este trabajo fue controlar biológicamente el "damping off", se encontraron dos géneros causantes del damping off en almacigo de café: *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. Para determinar el porcentaje de crecimiento y control en el medio de cultivo, se utilizó el método de conteo de cuadrantes, donde se obtuvieron los porcentajes del crecimiento micelial del hongo antagonístico *Trichoderma* sp., y de los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp.

Estadísticamente existió una diferencia altamente significativa en la variable porcentaje de crecimiento de *Trichoderma* sp. sobre los hongos patógenos *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. a los 3, 6 y 9 días esto da a conocer que el factor tiempo y los tratamientos son dependientes entre sí. La variable de control mostró una diferencia altamente significativa en el factor tiempo y tratamiento, pero en la interacción no muestra diferencia significativa esto da a conocer que son independientes los factores, por lo que el hongo *Trichoderma* sp., no depende del tiempo en los tratamientos, así mostrando su poder inhibidor a *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp.. Esta prueba da referencias de que existe control del hongo antagonístico sobre los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp.

© 2011. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

Due to the indiscriminate use agrochemicals in conventional agriculture, it is causing pollution problems in the environment (soil, air and water), hence the search for alternatives that contribute to agricultural production by agrochemical free sustainable production. This paper studies the biological control of damping off in coffee (*Coffea arabica*) by applying antagonistic fungus *Trichoderma* sp. Under experimental conditions at laboratory facilities of the Academic Unit Carmen Pampa Campesina, a community of Carmen Pampa, Township Coroico.

The aim of this study was to biologically control the "damping off", they found two genera that cause damping off in seedbed of coffee: *Rhizoctonia* sp. and *Fusarium* sp. To determine the percentage of growth and control in the culture medium, we used the method of counting quarters, where they gave the mycelial growth of antagonistic fungus *Trichoderma* sp., And the fungal pathogens *Rhizoctonia* sp. and *Fusarium* sp.

Statistically there was a highly significant difference in the variable growth rate of *Trichoderma* sp. on pathogenic fungi *Rhizoctonia* sp. and *Fusarium* sp. at 3, 6 and 9 days that announces the time factor and treatments are interdependent. The control variable showed a highly significant difference in the time factor and treatment, but the interaction shows no significant difference this makes known factors that are independent, so the fungus *Trichoderma* sp. not depend on time in treatment, thus showing its inhibitory power to *Rhizoctonia* sp. and *Fusarium* sp. This test gives references that there is antagonistic fungus control on the fungal pathogens *Rhizoctonia* sp. and *Fusarium* sp.

© 2011. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivian. All rights reserved.

Introducción

La producción agrícola se ve constantemente afectada en sus rendimientos y calidad final de producción, debido al ataque de una gran diversidad de organismos fitopatógenos, fundamentalmente hongos y bacterias, siendo los primeros el grupo principal de agentes causales de enfermedades en las plantas. (Agrios 1991)

Las enfermedades producidas por organismos fitopatógenos, tales como bacterias, nematodos, u hongos, constituyen generalmente la mayor causa de pérdidas en la producción agrícola (Benítez et al 2004). Dentro de éstos, los hongos comprenden uno de los principales grupos tanto por su diversidad como por las pérdidas que originan a nivel económico (Benítez et al 2000). La persistencia de varias especies de hongos fitopatógenos tales como *Phythium*, *Phytophthora*, *Botrytis*, *Sclerotinia*, *sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, y *Fusarium* ha aumentado durante los últimos años debido a los cambios que se han presentado en las prácticas agrícolas, principalmente por el uso indiscriminado de químicos y por la contaminación que ocasionan por su empleo, con efectos perjudiciales no solo sobre los cultivos de importancia económica, sino sobre los demás organismos, a través de la adquisición de resistencia a las estrategias desarrolladas en los últimos años para su control. (Benítez et al 2000)

La práctica tradicional más común para la disminución y eliminación de los efectos perjudiciales, ocasionados por los agentes fitopatógenos mencionados se basa en el empleo de plaguicidas, práctica denominada como control químico. A pesar del aumento de la conciencia

social que se tiene ante el enorme deterioro medioambiental que supone la utilización indiscriminada de estos compuestos químicos, ha provocado un gran interés en la búsqueda de sistemas ambientalmente sostenibles para el control de plagas y enfermedades. En este sentido, una estrategia promisorio es la utilización de microorganismos antagonistas de los agentes infecciosos y que desplazan a éstos de una manera natural, denominada control biológico (Benítez et al 2004). Como consecuencia de esto, existe un interés creciente por la explotación y utilización de los microorganismos para el control de plagas.

En general, las especies de *Trichoderma* producen enzimas extracelulares, sustancias antibióticas de naturaleza volátil y no volátil y compuestos antifúngicos, pero también son fuertes competidores por el espacio y nutrientes frente a otros fitopatógenos, además promueven el crecimiento de las plantas e inducen la resistencia sistémica en éstas. (Hermosa et al 2000) Por tal razón, los hongos del género *Trichoderma* han sido los microorganismos más utilizados para el control de enfermedades en plantas producidas por hongos durante más de 70 años, pero solo hasta hace poco tiempo estas cepas han comenzado a adquirir un valor comercial importante, debido a los efectivos resultados obtenidos durante su aplicación y a la aparición de nuevas tecnologías para la producción masiva y el desarrollo de productos a base de este hongo. (Clavijo 1998)

En el laboratorio de Control Biológico del Centro de Biotecnología y Bioindustria de Corpoica, se han realizado estudios relacionados con el aislamiento, selección, producción, formulación y evaluación de las cepas de *Trichoderma* como potenciales biocontroladores de hongos

fitopatógenos. Este es el caso del hongo *Trichoderma koningii* (cepa Th003) aislado a partir de suelos de Cundinamarca, con el cual se ha obtenido entre un 70 - 100% de control bajo condiciones de invernadero frente a patógenos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (Betancourt 1997), *Rhizoctonia solani* (Cárdenas 1999; Saldamando 1996), *Botrytis cinérea* y *Oidium* sp (Moreno 2003) en tomate, *Phythium splendens* en frijol y pepino (Cotes 1993), *Sclerotium cepivorum* en cebolla de bulbo (Paris & Cotes 2002) *Sclerotinia sclerotiorum* en lechuga tipo batavia y *Alternaria dauci* en cilantro (Villamizar et al 2004), demostrando la versatilidad de esta cepa para el biocontrol de fitopatógenos de suelo y foliares.

De ahí que se hayan desarrollado diferentes estrategias o sistemas de producción masiva de este hongo biocontrolador sobre varios sustratos usando técnicas de fermentación tanto líquida como sólida para la obtención de conidios en rendimientos que alcanzan hasta 10^9 conidios/g (Peña 2002)

En los últimos años, la caficultura orgánica viene desarrollando el control biológico de plagas, tal el caso del mal del almácigo “*damping off*” (volcamiento) cuyo agente causal es uno de un conjunto de hongos de los géneros *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Sclerotium* y *Fusarium*. (Chen 1987; Craft & Nelson 1996; Lewis et al 1992; Santos & Bettioli 2003)

La agricultura orgánica constituye una fuente de carbono y otros nutrientes que favorece la actividad microbiana y mejora la estructura del suelo, creando así un medio ideal para el crecimiento, cuya respuesta es variable y depende del cultivo, tipo de suelo, factores climáticos,

prácticas de manejo y de las características del material utilizado (Cotxaterra et al 2002).

Incorporar abonos orgánicos al agroecosistemas provenientes de diferentes materiales vegetales y animales ha demostrado tener ciertos efectos supresivos hacia algunas enfermedades, debido a una situación especial de las poblaciones microbianas (Craft & Nelson 1996; Hoitink et al 1997; Hoitink & Boehm 1999; Bulluck et al 2002; Cotxaterra et al 2002). Algunos autores señalan que el fenómeno de supresión de patógenos de suelo por la adición de enmiendas orgánicas está asociado fundamentalmente al antagonismo ejercido por estimulación de la actividad microbiana y que, como tal, debiera ser considerado como un fenómeno de control biológico (Baker & Cook 1974). El efecto de las enmiendas sobre la composición cualitativa y cuantitativa de la microbiota ha sido señalado como un indicador de la supresividad potencial de este método (Hoitink & Boehm 1999; Dissanayake & Hoy 1999).

Por tal razón, el objetivo de esta investigación fue determinar el *damping off* usando como biocontrolador a *Trichoderma* spp, en almácigo de café en condiciones experimentales, en previos de la Unidad Académica Campesina Carmen Pampa.

Materiales y métodos

Localización del lugar de estudio. La investigación se llevo a cabo en instalaciones de la Unidad Académica Campesina Carmen Pampa, Campus Leahy, de la Unidad Académica Campesina Carmen Pampa, ubicada en la Comunidad Carmen Pampa, perteneciente al municipio de Coroico, primera sección de la provincia Nor Yungas del Departamento de La

Paz – Bolivia, situada a una altura de 1.850 msnm, a 16° 20'30'' de latitud sur y 67° 50'30'' de longitud oeste. La distancia de la ciudad de La Paz a Carmen Pampa es de 115,5 Km. (INE-MDSP-COSUDE 1999)

La zona presenta una precipitación de 1.853 mm, una temperatura promedio anual de 17,5° C, una velocidad media del viento de 0,81 m/s de dirección norte-sur. (Estacional meteorológica Carmen Pampa 2006), pertenece al tipo bosque húmedo premontano tropical con una humedad relativa del 75%, Holdridge (1987).

Unidad experimental. Se preparo dos almácigos de las siguientes dimensiones: 0,16 m de alto, 0,50 m de ancho y 0,50 m de largo. Cada unidad fue identificada como A y B, contenían 7 partes de tierra negra, 2 partes de tierra del lugar y 2 partes de arena fina, se sembró al voleo sin previa desinfección a fin de enfermar los plantines de café (Fig. 1). Las muestras de damping off se sacaron del almácigo para realizar la prueba de antagonismo en laboratorio.

La siembra al voleo, con un total de 0,5 kg de semilla que constan de 1500 unidades en granos de café, *Coffea arabica L.* var. Caturra Amarillo, posteriormente se cubrió con una capa de sustrato, la germinación fue a los 65 días, donde se observó la inestabilidad y un crecimiento no homogéneo de las pequeñas plantas.

Material biológico. Se recolectaron plantines infectados por el *damping off* (volcamiento), se realizó su identificación, obteniéndose dos géneros, el que causa la necrosis y marchitamiento de las plántulas de café en almácigo, géneros *Fusarium spp* y *Rhizoctonia spp*.

Aislamiento del hongo fitopatógeno. Para su aislamiento, se desinfectaron las muestras con hipoclorito de Sodio al 5%. Posteriormente se

colocó Agar Papa Dextrosa (PDA) en 2 placas de Petri de 100x10 mm, se cultivaron partes infectadas, hojas y raíz, luego se incubo a 30°C, 60% HR, por 6 días. Posteriormente se identifico y repicaron los hongos fitopatogenos *Rhizoctonia sp* y *Fusarium sp*, a fin de obtener un cultivo puro, la identificación se realizó por medio de comparaciones de estructuras de los micelios (Agrios 1998; Finch 1997; Rodríguez 2002).

Obtención del biocontrolador. *Trichoderma spp*, fue obtenida del laboratorio de fitopatología, de la Unidad Académica Campesina Carmen Pampa (UAC-CP) fueron cultivadas y mantenidas en placas de Petri utilizando Agar Para Dextrosa (PDA) mas acido láctico 250 µL/100mL, y fueron mantenidos en forma pura en el laboratorio de Fitopatologia de la UAC-CP, en condiciones estables a 25°C, luz constante y 60% HR.

Conteo de conidios en cámara de Neubauer. Del cultivo de *Trichoderma spp*, *Fusarium sp* y *Rhizoctonia sp*, las ufc se mezclaron con 2 mL de agua destilada estéril, de esta suspensión de colocó 0,05 mL en la cámara de Neubauer, y observándose con un microscopio Olympus CH31, objetivo 40X.

Antagonismo en cultivo. Se utilizaron 20 placas de Petri de 100x10 mm, se colocó 10 mL de medio de cultivo PDA en cada placa de Petri, se cultivo las cepas de *Trichoderma spp*, *Fusarium sp* y *Rhizoctonia sp*, aplicando 20 µL/placa de Petri, la concentración conidial usando la cámara de Neubauer, fue de 3,38x10⁹/mL de *Trichoderma spp*, *Rhizoctonia sp* con 1,5x10⁷/mL y *Fusarium sp* 1,6x10⁷/mL.

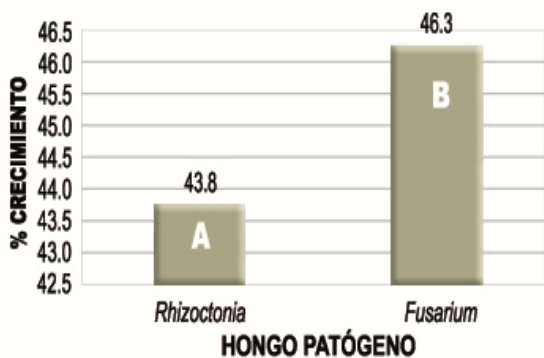
Toma de datos. La toma de datos se realizó a los 3, 6 y 9 días mediante el conteo de cuadrantes, cada cuadrante mide 5 mm en las placas de Petri, la lectura se realizó en porcentajes. El diseño que se

utilizó fue parcelas divididas en diseño completamente al azar con dos factores, como factor A tenemos a los hogos utilizados como los tratamientos representando a la parcela principal y como factor B las 3 mediciones en el tiempo (3, 6 y 9 días) desde la inoculación cada uno con 5 repeticiones siendo la sub parcela.

Resultados

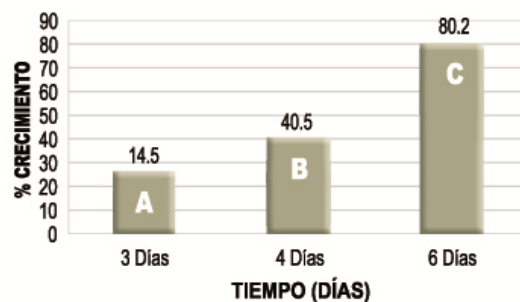
Infección de las plántulas en la Unidad experimental.

Fig 1 Porcentaje de crecimiento cepas nativas de *Rhizoctonia* sp y *Fusarium* sp en agar papa dextrosa (PDA)



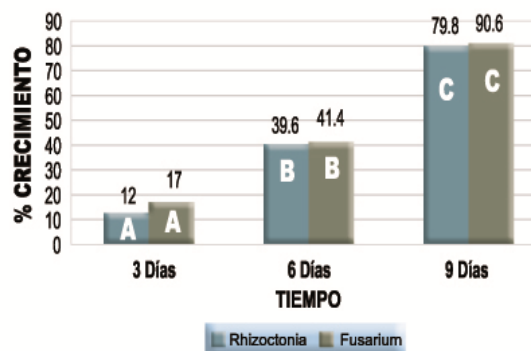
La prueba Duncan ($\alpha = 0.05$) indica que el fitopatógeno *Fusarium* sp tuvo un crecimiento significativo respecto a *Rhizoctonia* sp.

Fig. 2 Porcentaje de crecimiento a 3, y 9 días de las cepas nativas de *Rhizoctonia* sp y *Fusarium* sp en Agar Papa Dextrosa (PDA)



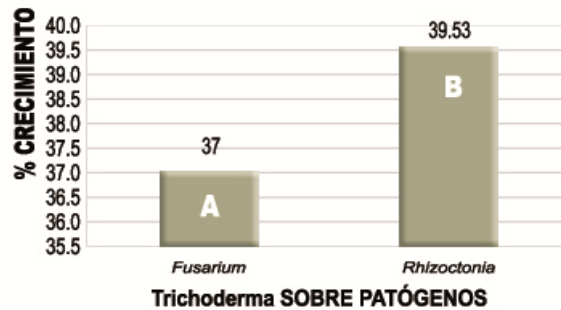
La prueba Duncan ($\alpha = 0.05$) indica que a los nueve días existió una diferencia estadística a los seis y tres días, y a los nueve días existió un crecimiento comparado con los tres días.

Fig 3 Interacción entre le tiempo de crecimiento de las cepas nativas de *Rhizoctonia* sp y *Fusarium* sp y el porcentaje de crecimiento en agar papa dextrosa (PDA)



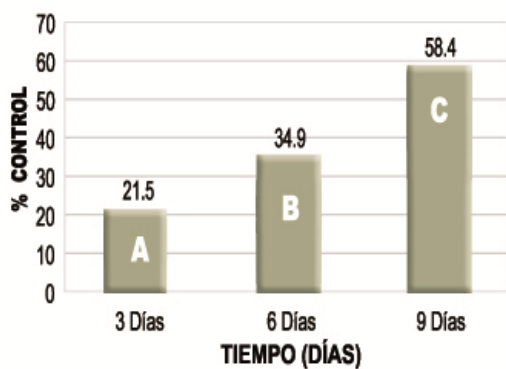
La interacción de las cepas nativas de *Rhizoctonia* sp y *Fusarium* a los nueve días no hay diferencia estadística entre ambos fitopatógenos, en tanto a los 3 y 6 días, se observa una arcada diferencia.

Fig 4 Porcentaje de control de *Trichoderma spp* sobre las cepas nativas de *Rhizoctonia sp* y *Fusarium sp* en Agar Papa Dextrosa (PDA)



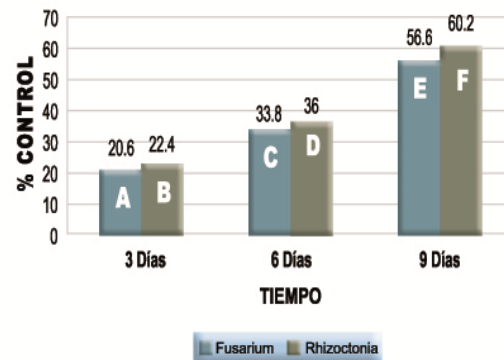
La prueba Duncan ($\alpha = 0.05$) indica que la aplicación del biocontrolador *Trichoderma spp* sobre la cepa nativa de *Rhizoctonia sp* tuvo un crecimiento significativo respecto a *Fusarium sp*, que se ha desarrollado en el medio de cultivo.

Fig 5 Porcentaje de control de las cepas nativas de *Rhizoctonia sp* y *Fusarium sp* por *Trichoderma spp* a los 3, 6, 9 días en agar papa dextrosa (PDA)



La prueba Duncan ($\alpha = 0.05$) muestra que a los nueve días *Trichoderma spp* ejerce efecto biocontrolador de las cepas nativas de *Rhizoctonia sp* y *Fusarium sp*, con relación a las 3 y 6 días de tratamiento.

Fig 6 Interacción entre el tiempo y el porcentaje de control de *Trichoderma spp* de las cepas nativas de *Rhizoctonia sp* y *Fusarium sp* a los 3, 6 y 9 días en agar papa dextrosa (PDA)



La interacción de *Trichoderma spp* a los nueve días con las cepas nativas de *Fusarium sp* y *Rhizoctonia sp*, en tanto a los 3 y 6 días la interacción era mínima. El biocontrolador ejerce una actividad progresiva en función al tiempo.

Discusión

Al emprender el presente trabajo, el objetivo fue determinar el “damping off” (volcamiento) con el uso del biocontrolador *Trichoderma spp*, en almácigo de café, en previos de la Unidad Académica Campesina Carmen Pampa. Enfocando el control biológico como “el uso de microorganismos vivos para el control de otros microorganismos”, especialmente en lo referente a biofungicidas, cuya base es la relación antagónica entre microorganismos, especialmente entre “hongos patógenos del suelo”, con otros habitantes naturales del suelo, como de *Trichoderma* un antagonista. También se tiene ciertas referencias de control biológico de hongos del suelo y nematodos, bajo el principio de la relación de competencia entre estos patógenos y los microorganismos del suelo, a través de la incorporación de abono orgánico (Languidez 1995)

Las principales enfermedades del café son causadas por hongos, principalmente roya (*Hemileia vastatrix*), antracnosis (*Colletotrichum coffeanum*), fomosis (*Phoma spp.*), (*Phomopsis sp.*) y (*Colletotrichum spp.*), damping off (*Rhizoctonia solani*) y otros; también sufre de enfermedades bacterianas, como mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *Garcae*). Entre las plagas tenemos a insectos como minador de la hoja (*Perileucoptera coffeella*) y la broca del café (*Hypothenemus hampei*), ácaros como, ácaro amarillo del café (*Oligonychus ilicis*) y nematodos (Freire et al 2002).

Se determinó que los agentes causales actúan en lugares específicos de los plantines de café:

La infección por el género *Fusarium sp* penetró y actuó en la parte aérea de la plántula de café, su síntoma fue una necrosis que empieza en la raíz y termina en la parte aérea.

El género *Rhizoctonia sp* afectó las raíces primarias y secundarias, su síntoma fue la formación de estrías marrón rojizas ubicadas en los primeros centímetros por debajo del suelo, luego se marchitaron llegando a la senectud

El crecimiento de los fitopatógenos a los nueve días no existe una diferencia estadística entre *Fusarium sp.* y *Rhizoctonia sp.*, pero ambas muestran una diferencia estadística los días 3 y 6, a los seis días no existió diferencia estadística entre *Fusarium sp.* y *Rhizoctonia sp.*, pero son diferentes comparando a los tres días, de la misma manera no existió diferencia significativa a los tres días entre *Fusarium sp.* y *Rhizoctonia sp.*, dando a conocer que a los nueve días tanto *Fusarium sp.* y *Rhizoctonia sp.* tuvieron el mismo porcentaje de crecimiento, de la misma forma a los seis días *Fusarium sp.* y *Rhizoctonia sp.* tuvieron el mismo crecimiento, así como a los tres días (Figura 5).

Conflictos de interés

Esta investigación no presenta conflictos de interés.

Agradecimientos

Los autores agradecen al personal del Laboratorio de Fitopatología de la Carrera de Agronómica. A la Cooperación Técnica Belga (CTB) por el financiamiento, a USAID/Bolivia por el financiamiento.

Literatura citada

Agrios G. Fitopatología. Editorial Limusa. México. 1991; p.741.

Agrios GN. Fitopatología: pudrición de la raíz y el tallo por ascomicetos y hongos infectados. 2ed., Chapingo, Mexico. Limusa. 1996; p.183-274.

Baker KF, Cook RJ. Biological control of pathogens. W.H. Greeman Co., San Francisco, CA. 1974.

Benítez T, Rincón AM, Limón MC, Codón A. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology. 2004; 7:249-260.

Benítez T, Rincón AM, Limón MC, Rey M, Delgado-Jarana J. Mejora de cepas de *Trichoderma* para su empleo como biofungicidas. Revista Iberoamericana de Micología. 2000;17:S31-S36.

Betancourt J. Evaluación de una técnica de pregerminación controlada en matriz sólida en combinación con los agentes de control biológico *Trichoderma koningii* y

- Pseudomonas fluorescens* para el control del marchitamiento vascular del tomate *Lycopersicon esculentum* causado por el hongo *Fusarium oxysporum*. tesis licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de los Andes. 1997; p.29-45.
- Bulluck III LR, Brosius M, Evanylo GK, Ristaino JB. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Appl Soil Ecol.* 2002;19:147-160.
- Cárdenas A. Control biológico bajo condiciones de invernadero de *Rhizoctonia solana* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici saccardo* en tomate (*Lycopersicon esculentum*) empleando pregerminación controlada de semillas y los agentes biocontroladores *Trichoderma koningii Oudemans* y *Pseudomonas fluorescens Migula*. tesis licenciatura. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, 1999; p.53.
- Chen W, Hoitink HAJ, Schmitthenner AF. Factors affecting suppression of *Pythium* damping off in container media amended with composts. *Phytopathology*, St. Paul. 1987;77:755-760.
- Clavijo G. Estudio de la actividad quitinolítica en procesos de control biológico de *Rhizoctonia solani kuhn* en tomate (*Lycopersicon esculentum*), mediante tratamientos de pregerminación controlada de semillas en presencia de *Trichoderma koningii Oudemans*. Tesis licenciatura. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 1998; p.29-32,56-67.
- Cotes AM. Study of common vean protection against damping-off by treatment of sedes with *Trichoderma koningii Oudemans*. tesis doctorado. Gembloux, Facultad de Ciencias Agronómicas. Belgica, 1993;p.120.
- Cotxaterra L, Trillas-Gay MI, Steinberg C, Alabouvette C. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato. *Soil Biol Biochem.* 2002;34:467-476.
- Craft CM, Nelson EB. Microbial properties of compost that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Appl Environ Microbiol.* 1996;65(5):1550-1557.
- Cuba N. Manual para el cultivo de café en los Yungas. Carmen Pampa-La Paz, Bolivia: Universidad católica Boliviana, Unidad Académica Campesina Carne Pampa, 2003: p.7.
- Dissanayake N, Hoy JW. Organic material soil amendment effects on root rot and sugarcane growth and characterization of the materials. *Plant Dis.* 1999;83:1039-1046.
- Finch HC. Hongos comunes que atacan a los cultivos, 2ed., Mexico, Trillas. 1997.

- Freire M, Fernández M, Castro C. Cultivo orgánico de café recomendaciones técnicas. Brasilia, Embrapa Información Tecnológica. 2002; p.99.
- Hermosa MR, Grondona I, Iturriaga EA, Diaz-Minguez JM, Castro C, Monte E, et al. Molecular Characterization and Identification of Biocontrol Isolates of *Trichoderma* spp. Applied and Environmental Microbiology. 2000;66(5):1890-1898.
- Hoitink HA, Zhang W, Han DY, Dick WA. Making compost to suppress plant disease. BioCycle. 1997;38:40-42.
- Hoitink HAH, Boehm MJ. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. Annu Rev Phytopathol. 1999;37:427-451.
- Holdridge R. Ecología basada en zonas de vida. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). San José – Costa Rica. 1987; 94p.
- Ine – Mdsp – Cosude. (Instituto Nacional de estadística – Ministerio de Desarrollo Sostenible – Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación). Bolivia, un mundo de potencialidades. Atlas estadístico de municipios. La Paz – Bolivia. 1999; 64 p.
- Languidez P. Introducción a la fitopatología: principios generales de control de enfermedades. ed. Santa Cruz, Bolivia. 1995;p.98-107.
- Lewis JA, Lumsden RD, Millner PD, Keinath A. Suppression of damping-off of peas and cotton in the field with compost sewage sludge. Crop Protection Surrey. 1992;11:260-266.
- Lewis JA, Lumsden RD. Biocontrol of damping-off of green house-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. Crop Protection. 2001;20:49-56.
- Moreno VC. Control biológico de enfermedades foliares del cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) con énfasis en mildew polvoroso (*Oidium* sp.). tesis licenciatura. Facultad de Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de Colombia. 2003; p.106.
- París A, Cotes AM. Biological control of *Sclerotium cepivorum* in onion with a yeast and bacteria. En: Y. Elab, J. Köhl & N. Delen (eds.) Program and Abstracts. Influence of Abiotic and Biotic Factors on Biocontrol Agents. Seventh meeting of the IOBC/WPRS WG. Mayo 2002. Turkia. Pune Bay, Kusadasi. 2002; p.100.
- Parmeter JR, Whitney HS, Platt WD. Affinities of some *Rhizoctonia* species that resemble mycelium of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopathology. 1967;57:218-223.
- Peña V. Efecto de diferentes sustratos sobre la producción de conidios de *Trichoderma koningii* en medio sólido. tesis licenciatura. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 2002; p.152.

- Rifai MA. A revisión of the genus *Trichoderma*. Mycol Papers. C.M.I. 1969;116:1-56.
- Rodríguez L. Efecto antagónico y biocontrolador de algunos microorganismos saprofitos contra *Rhizoctonia solani* un fitopatógeno causante del damping off en plantas de tomate. Tesis maestría. Lima, UNMSM. (Universidad Nacional Mayor de San Marcos) 2002;p.8.
- Saksena SB, Vaartaja O. Descriptions of the new species of *Rhizoctonia*. Can J Bot. 1955;38:931-943.
- Saldamando CI. Control de *Rhizoctonia solani* Kuhn en tomate mediante una combinación de tratamientos de pregerminación controlada y el agente de control biológico *Trichoderma koningii* Oudemans. Tesis licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de los Andes, Bogotá. 1996; p.12-33.
- Santos I, Bettiol W. Effect of sewage sludge on the rot and seedling damping-off of bean plants caused by *Sclerotium rolfsii*. Crop Protection Surrey. 2003;22:1093-1097.
- Toussoun TA, Nelson PE. A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species. Pennsylvania State University Press.
- Villamizar L, Moreno C, París A, Cotes A, Garzón C. Development of biopesticide prototypes for controlling pathogens in vegetables. En: Diseases Biocontrol. International Workshop: Development of biocontrol agents of diseases for comercial applications in food productions Systems. Book of Abstracts. Sevilla, España. Ediciones dela Udl. 2004; p.136.
-