

Importancia del aislamiento y del rango de concentración de conidias en el efecto de *Trichoderma asperellum* sobre el crecimiento de plántulas de *Solanum lycopersicum* L.

Importance of strain and concentration range of conidia in the effect of *Trichoderma asperellum* on the growth of tomato seedlings *Solanum lycopersicum* L.

Sonia Elena Gómez Ramírez*, Elizabeth Gilchrist Ramelli**, Sebastián Reynaldi***

Resumen

El crecimiento longitudinal de tallos y raíces fue investigado en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L), luego de la aplicación de cuatro aislamientos de *Trichoderma asperellum*: T25, T46, T84 y T109. Sólo la aplicación del aislamiento T109 causó un incremento significativo ($p \leq 0,05$) del crecimiento longitudinal de tallos y raíces. El peso seco de las plántulas también fue estimulado desde la primera semana luego de la aplicación de T109. El crecimiento fue estimulado significativamente ($p \leq 0,05$) por la aplicación de 10^5 y 10^6 conidias/ml, pero no lo fue por la aplicación de 10^4 , 10^7 y 10^8 conidias/ml. Estos resultados indican que el estímulo del crecimiento producido por *T. asperellum* en plántulas de tomate, sólo ocurre con aislamientos particulares y un rangos de concentración específicos.

Palabras claves: *Trichoderma asperellum*, Estímulo del crecimiento, Plántulas de tomate, Aislamientos de *Trichoderma*, Rango de concentraciones.

Abstract

Longitudinal growth of shoot and roots was investigated in tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L) after application of four isolates of *T. asperellum* (T25, T46, T84 y T109). Only the isolate T109 caused a significant ($p \leq 0.05$) increase of longitudinal growth of roots and shoots, and dry weight of seedlings was also stimulated from the first week after T109 application. The growth was significantly ($p \leq 0.05$) stimulated by 10^5 and 10^6 conidia/ml, but it was not by 10^4 , 10^7 and 10^8 conidia/ml. These results indicate that growth stimulus caused by *T. asperellum* in tomato seedlings, occurs only with specific isolates and at a specific concentration ranges.

Key words: *Trichoderma asperellum*, Growth stimulation, Tomato seedlings, *Trichoderma* strains, concentration range.

Recibido: febrero 12 de 2012

Aprobado: junio 22 de 2013

* Grupo BioDes, Departamento de Ciencias Agronómicas, Universidad Nacional de Colombia, Calle 59a 20-63, Medellín, Colombia. sego-mezr@yahoo.es

** Grupo BioDes, Departamento de Ciencias Agronómicas, Universidad Nacional de Colombia, Calle 59a 20-63, Medellín, Colombia. elygilchrist@hotmail.com

*** Grupo BioDes, Departamento de Ciencias Agronómicas, Universidad Nacional de Colombia, Calle 59a 20-63, Medellín, Colombia. sreynaldi@unal.edu.co

Introducción

El género *Trichoderma* está conformado por hongos de vida libre presentes en casi todas las regiones del planeta (Schuster y Schmoll, 2010) y en una gran variedad de ecosistemas (Woo et al., 2006). Este género está relacionado con el estímulo del crecimiento vegetal y la resistencia de las plantas a enfermedades infecciosas (Harman et al., 2004a). Así, productos comerciales a base de hongos del género *Trichoderma* redujeron la replicación del protozoo *Spongospora subterranea* en plántulas de tomate y compensaron la reducción del crecimiento causada por la infección (Nielsen y Larsen, 2004). *S. subterranea* replica en *Solanáceas* como tomate y papa, en la cual causa la enfermedad sarna polvosa que reduce el tamaño de las plantas y la producción de tubérculos (Gilchrist et al., 2011). El presente trabajo es parte de un proyecto de investigación sobre los efectos del género *Trichoderma* en la sarna polvosa.

La filogenia y la capacidad de estimular el crecimiento del frijol *Phaseolus vulgaris* fue investigada en más de 100 aislamientos del género *Trichoderma* de Colombia y otros países de la región andina tropical (Hoyos-Carvajal et al., 2009a; Hoyos-Carvajal et al., 2009b). En estos trabajos, se pudo observar que dentro de una misma especie hay aislamientos que pueden estimular el crecimiento del frijol y otros que no. El objetivo del presente trabajo es evaluar diferentes aislamientos de una misma especie, *Trichoderma asperellum*, en plántulas de tomate *Solanum lycopersicum* L. Las plántulas de tomate son un modelo experimental para evidenciar los efectos de *T. asperellum* sobre el crecimiento vegetal desde hace varias décadas (Lindsey et al., 1967). Además, *S. subterranea* puede replicar en plántulas de tomate, donde fue sensible a los efectos de hongos del género *Trichoderma* (Nielsen y Larsen, 2004).

De los aislamientos analizados en Hoyos-Carvajal et al. (2009b), se seleccionaron cuatro pertenecientes a la especie *T. asperellum*: T25, T46, T84 y T109. En el frijol, T25 y T46 estimularon el crecimiento de las plántulas, T109 causó una leve inhibición y T84 no tuvo ningún efecto (Hoyos-Carvajal et al., 2009b). Además, los aislamientos T84 y T109 redujeron la replicación de *S. spongospora* en papa sembrada en macetas y estimularon el crecimiento de las plantas infectadas (Hoyos-Carvajal et al., 2008). Sin embargo, en campo los aislamientos T25, T46, T84 y T109 no redujeron los efectos de la sarna polvosa de la papa (Gilchrist et al., 2009). En algunos aislamientos del género *Trichoderma* se pudo observar que los efectos sobre el crecimiento sólo ocurren en un específico rango de concentraciones de inóculo fúngico (Ousley et al., 1994a). En el presente trabajo, para descartar una

posible falta de efecto debido a la concentración de conidias aplicada, el resultado sobre el crecimiento de las plántulas se evaluará en un amplio rango de concentraciones de inóculo.

Materiales y métodos

Preparación de las suspensiones de *T. asperellum*

Los aislamientos T25, T46, T84 y T109 provienen de la colección de microorganismos de la Unidad de Biotecnología y Control Biológico de la Corporación para Investigaciones Biológicas - CIB (Medellín, Colombia) fueron clasificados como *Trichoderma asperellum* por Hoyos-Carvajal et al. (2009). En el presente trabajo se prepararon suspensiones de cada uno de los aislamientos partiendo de cultivos realizados en botellas de vidrio conteniendo una mezcla de 20 g arroz cocido, 25 ml de agua destilada estéril, 2 g de glucosa y 2 ml de una solución de ácido láctico al 3 % v/v. Luego de esterilizadas, las botellas se sembraron e incubaron bajo condiciones de asepsia a temperatura ambiente. Luego de 8 días se removieron las conidias con agua de red estéril y se realizaron diluciones hasta alcanzar las concentraciones requeridas. Se utilizó agua de red porque tiene solutos en un rango constante, los solutos permiten evitar un *choque hipotónico* como el que podría provocar el *agua destilada que carece de solutos*. La concentración y viabilidad de las conidias en las suspensiones se determinaron sembrando diluciones de las suspensiones en agar papa dextrosa (Oxoid™, Thermo Fisher Scientific Inc.).

Cultivo de las plántulas de tomate

Las suspensiones de los aislamientos se aplicaron a plántulas embrionarias de tomate crecidas en forma individual en almácigos plásticos con 2 cm³ de sustrato orgánico Lombricompuesto^{TR} (Jardines Sierra). Se consideró como plántula embrionaria, la plántula con sus hojas cotiledonares totalmente desplegadas, estadio principal 10 (Meier, 2001). Las plántulas se originaron a partir de semillas de *Solanum lycopersicum* L variedad Chonto Santa Cruz (Fercon S.A.). Las semillas sembradas fueron dispuestas bajo luz controlada en un ciclo de 12h luz/12h oscuridad, a una temperatura de 20 ± 1°C y con un régimen de riego de 3 ml de agua por plántula 3 veces por semana. No se utilizaron pesticidas, ni fertilizantes.

Diseño experimental

El incremento longitudinal de las plántulas se comparó durante un periodo de 28 días luego de la aplicación

de los aislamientos de *T. asperellum* (Tratamientos: control, T25, T46, T84 y T109). La longitud de las raíces de las plántulas se comparó luego de 21 días de la aplicación de los aislamientos de *T. asperellum* (T46 y T109) y de la auxina sintética ácido naftalenacético (ANA). Se escogieron T109 y T46 porque tuvieron efecto contrario sobre el crecimiento longitudinal de las plántulas (figura 1). Para las pruebas de ANA, se aplicaron 0,41 ml por plántula del producto Hormonagro^{TR} (Colinagro). La concentración aplicada cumple con las especificaciones del producto, 0,516 mg/m² a partir de una concentración de 25,3 mg/L. En este experimento, los tratamientos fueron T46, T109 y ANA. La longitud y el peso seco de plántulas, fueron determinados cada 7 días durante 21 días, luego de la aplicación del aislamiento. Los tratamientos fueron la aplicación de T109 (niveles: control y T109) y el tiempo (niveles: 0, 7, 14 y 21 días). Dada la limitación de los almácigos donde se sembraron las semillas, largos periodos de cultivo de las plántulas pueden causar una subestimación del estímulo del crecimiento. Por esa razón, se acortó el tiempo de cultivo a medida que los experimentos revelaron un estímulo temprano del crecimiento (figura 3). En estos experimentos, las suspensiones aplicadas tuvieron una concentración de 10⁵ conidias/ml. El incremento longitudinal de las plántulas fue comparado luego de 8 días posteriores de la aplicación de suspensiones de concentraciones crecientes de conidias de T109 (niveles: 0, 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁷ y 10⁸ conidias/ml.) En todos los experimentos, se dispuso 10 plántulas em-

brionarias por tratamiento o nivel de tratamiento y se realizó una única aplicación de 10 ml de la suspensión correspondiente o 10 ml de agua de red estéril como control cada plántula.

La longitud del tallo y la raíz se midió desde el cuello hasta el extremo apical del último foliolo y desde el cuello hasta el extremo de la raíz principal, respectivamente. Estas mediciones se realizaron inmediatamente retiradas las plantas del sustrato, para evitar reducciones por deshidratación. El peso seco se determinó secando las plántulas a 75°C durante 48h, y pesándolas en grupos de 10 para calcular el promedio individual.

Análisis estadístico

Las medias registradas para los diferentes tratamientos, o niveles de tratamiento, se compararon utilizando un análisis de varianza de una vía seguido del ensayo de Dunnett. Los datos del experimento de los efectos de T109 a lo largo del tiempo se analizaron utilizando un análisis de varianza de dos vías. No se utilizó el ensayo de medidas repetidas porque las plántulas fueron cosechadas cada 7 días para determinar el peso seco. Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas se evaluaron mediante los ensayos de Kolmogórov-Smirnov y Levene, respectivamente. En caso de no cumplir estos supuestos, la transformación de Box-Cox fue aplicada. Los ensayos realizados se analizaron utilizando el software para estadística de uso y código libre "R", versión 2.11.1.

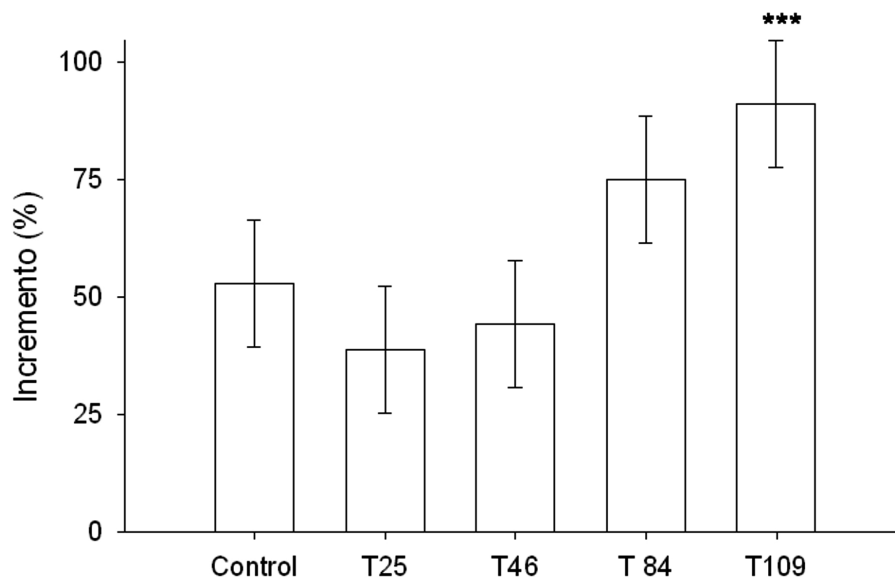


Figura 1. Incremento (%) de crecimiento de plántulas de tomate luego de 28 días posteriores de la aplicación de los aislamientos de *T. asperellum*. La altura de las barras indica el valor promedio y las barras de error indican intervalos de confianza de 95%. *** indican diferencias significativas ($p \leq 0,001$) respecto del control.

Resultados

De los aislamientos investigados, solo T109 causó un incremento significativo ($p \leq 0,001$) del crecimiento longitudinal de las plántulas (figura 1). Desde la aplicación, las plántulas con T109 crecieron un 91% en promedio, mientras que las plántulas control crecieron solo un 53%. Las plántulas con T84 crecieron un 75% en promedio, pero este crecimiento no fue significativamente diferente ($p \leq 0,05$) al de las plántulas control. Los aislamientos T25 y T46 causaron una leve inhibición del crecimiento, porque las plántulas solo crecieron un 39 y un 44%, respectivamente. Pero esta inhibición tampoco fue significativa ($p \leq 0,05$) con respecto al 53% de crecimiento de las plántulas control (figura 1).

Las raíces de las plantas con T109, crecieron longitudinalmente hasta alcanzar en promedio 4,3 cm luego de 21 días de la aplicación (figura 2). En el mismo lapso de tiempo, las raíces de las plantas control crecieron hasta alcanzar en promedio 2,5 cm de largo (figura 2). Esta diferencia muestra que T109 causó un incremento significativo ($p \leq 0,001$) en el crecimiento longitudinal de las raíces. Las raíces de las plántulas con la auxina sintética ácido naftalenacético (ANA) y con T46 crecieron hasta alcanzar en promedio 2,8 y 2,9 cm de largo, respectivamente (figura 2). Estas raíces fueron más largas que las raíces de las plantas control, pero la diferencia no fue significativa ($p \leq 0,05$).

El registro del incremento longitudinal de los tallos en el tiempo, permitió constatar que el efecto de T109 estuvo presente desde por lo menos la primera sema-

na luego de la aplicación hasta el final del experimento, tres semanas luego de la aplicación (figura 3A). Una situación similar surge cuando se analiza el incremento del peso seco en el tiempo (figura 3B). T109 estimuló no sólo el crecimiento longitudinal de las plántulas, sino también su peso seco.

El crecimiento de las plántulas de tomate respondió a la variación de la concentración de T109 a los 8 días luego de la aplicación (figura 4). Las plántulas control (a las que se les aplicó 0 conidias/ml), crecieron un 14% y las plántulas a las que se les aplicaron 10^4 conidias/ml crecieron un 25%. Las plántulas a las que se les aplicaron 10^5 y 10^6 conidias/ml crecieron un 40%. Las plántulas a las que se les aplicaron 10^7 y 10^8 conidias/ml solo crecieron un 25 y un 16%, respectivamente. El crecimiento porcentual de las plántulas control sólo fue significativamente menor ($p \leq 0,05$) al crecimiento de las plántulas a las que se les aplicaron 10^5 y 10^6 conidias/ml (figura 4).

Discusión

Importancia de los aislamientos en el estímulo del crecimiento vegetal

De los cuatro aislamientos ensayados, solamente los aislamientos T84 y T109 causaron un incremento del crecimiento mayor al registrado en las plántulas control. Además, el incremento causado por T109 fue significativo ($p \leq 0,001$) con respecto al control. Trabajos previos muestran que la capacidad de estimular el crecimiento vegetal está presente en más de una especie

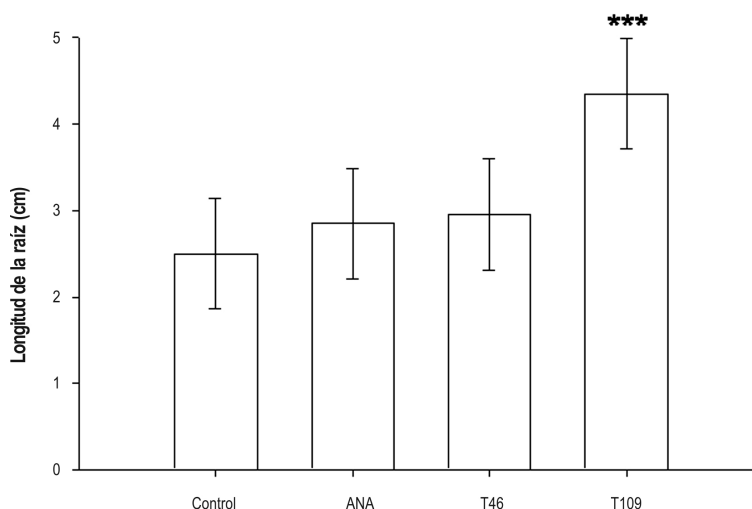


Figura 2. Longitud de las raíces de las plántulas de tomate luego de 21 días de la aplicación de suspensiones de T46, T109 y de la auxina sintética ácido naftalenacético (ANA). La altura de las barras indica el valor promedio y las barras de error indican intervalos de confianza de 95%. *** indican diferencias significativas ($p \leq 0,001$) respecto del control.

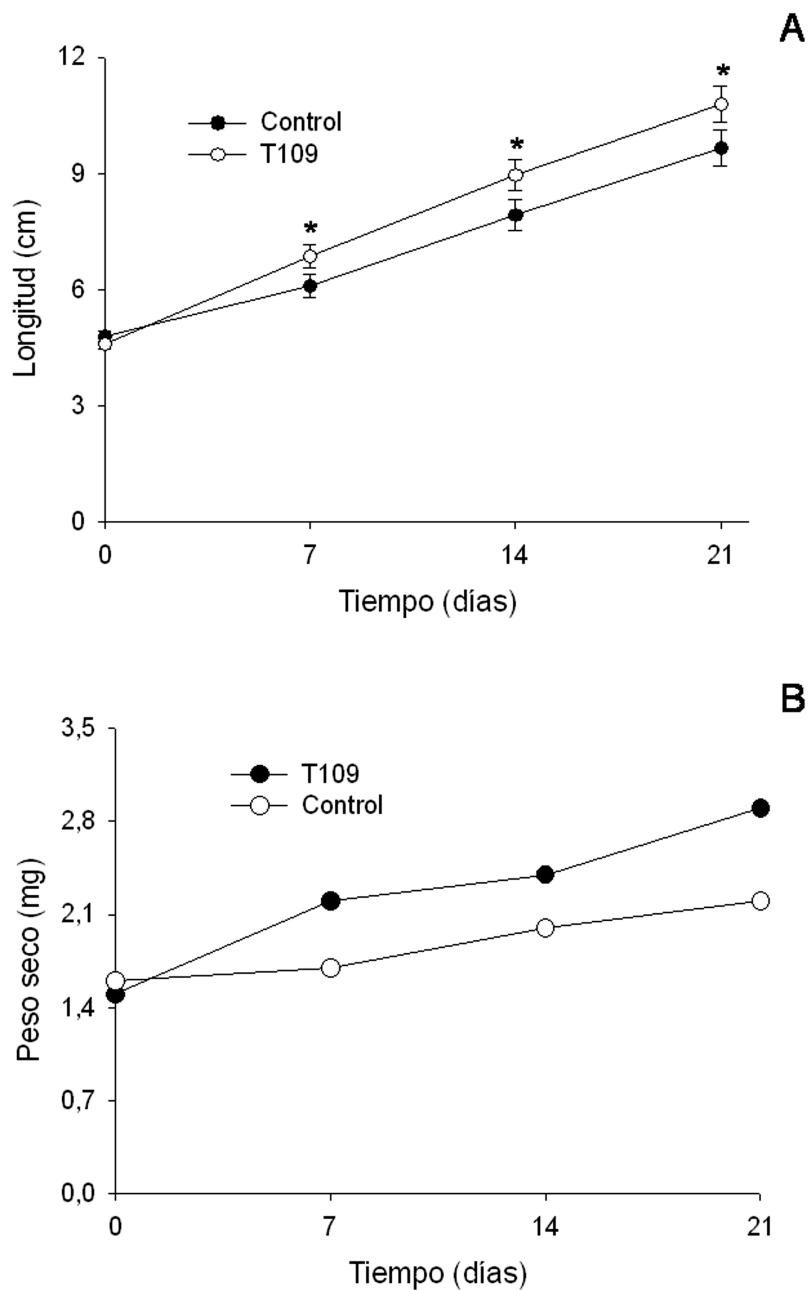


Figura 3. Incremento de la longitud (A) y el peso seco (B) de las plántulas en el tiempo. Los círculos oscuros indican el crecimiento promedio de las plántulas control y los círculos claros indican el crecimiento promedio de las plántulas a las que se les aplicó T109. Las barras de error indican intervalos de confianza de 95%. * indica diferencias significativas ($p \leq 0,05$) respecto del control.

del género *Trichoderma* (Ousley *et al.*, 1993, 1994b; Rabeendran *et al.*, 2000). Los resultados del presente trabajo indican que dentro de una misma especie, como es *T. asperellum*, hay aislamientos que pueden estimular las plántulas de tomate y otros que no. Lo mismo se observó en los aislamientos que estimularon el crecimiento de las plántulas de frijol, los cuales pertenecían a varias especies (Hoyos -Carvajal *et al.*,

2009b). Esto sugiere que la capacidad de estimular el crecimiento vegetal depende de aislamientos y no de especies.

Los aislamientos pueden tener diferentes propiedades con las que estimular el crecimiento vegetal. Todos los aislamientos investigados en el presente trabajo fueron previamente caracterizados por su capacidad de

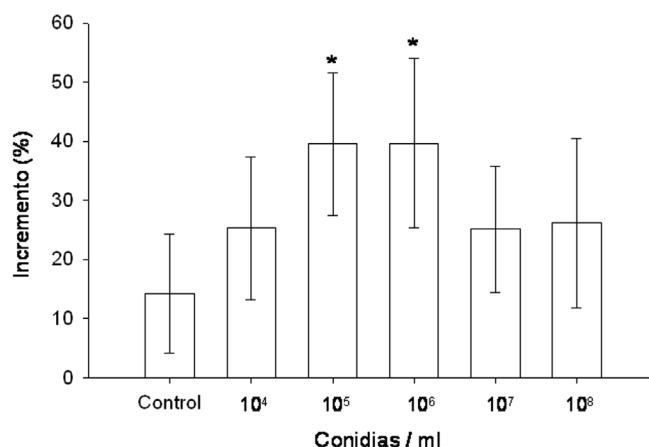


Figura 4. Incremento (%) del crecimiento de plántulas de tomate luego de 8 días posteriores de la aplicación de suspensiones de concentraciones crecientes del aislamiento T109. La altura de las barras indica el valor promedio y las barras de error indican intervalos de confianza de 95%. * indica diferencias significativas ($p \leq 0,05$) respecto del control.

solubilizar fosfato mediante la reducción de pH por producción de acidez (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009b). Además, en los aislamientos T109 y T84, se detectó la capacidad de producir quelantes de hierro y auxinas (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009b). Como en el presente trabajo, T109 y T84 estimularon el crecimiento de las plántulas de tomate (figura 1), se puede plantear la hipótesis de que el crecimiento de plántulas control estuvo limitado por la falta de hierro o auxinas. Sin embargo, la aplicación de la auxina sintética ácido nafalenacético (ANA) no incrementó la longitud de las raíces como lo hizo T109. Además, la aplicación de auxinas inhibió la elongación de las raíces de plántulas de tomate (Tyburski *et al.*, 2008). Esto indica que la capacidad de T109 de producir auxinas debe ser descartada para explicar sus efectos en el presente trabajo. Sin embargo, no se puede descartar la influencia de la capacidad de T109 de producir quelantes de hierro en el crecimiento de las plántulas de tomate. El aislamiento T-203 de *T. harzianum* estimuló el crecimiento longitudinal de plantas de pepino suministrando micronutrientes como hierro, el estímulo ocurrió desde la primera semana de la aplicación (Yedidia *et al.*, 2001). En el presente trabajo, T109 también estimuló el crecimiento longitudinal desde la primera semana luego de la aplicación. La hipótesis de la influencia de los quelantes de hierro debe ser investigada en futuros trabajos.

El aislamiento T109 fue efectivo para estimular el crecimiento de plántulas de tomate, pero causó una leve inhibición en plántulas de frijol en un trabajo previo (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009b). Contrariamente, los aislamientos T25 y T46 estimularon el crecimiento del frijol (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009b), pero no estimula-

ron el crecimiento de las plántulas de tomate. Además, T46 estimuló el crecimiento longitudinal de las raíces en frijol (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009b), pero no en las plántulas de tomate. Los efectos de los aislamientos del género *Trichoderma* sobre el crecimiento parecen no ocurrir en todas las especies vegetales, e incluso pueden variar entre cepas de una misma especie. El aislamiento T-22 de la especie *Trichoderma asperellum* estimuló el crecimiento de una variedad de maíz, pero no de otras (Harman *et al.* 2004b). En tomate, se estableció que el genotipo de la planta puede modular los efectos de los aislamientos aplicados (Tucci *et al.*, 2011). Esto sugiere que el aislamiento aplicado debe compensar la falta de nutrientes o metabolitos que limitan el crecimiento, y estas limitaciones pueden depender del fenotipo de la planta pero también del ambiente en que se encuentra la misma.

Importancia del rango de concentración de conidias aplicado

El estímulo del crecimiento también depende del rango de concentraciones de conidias aplicado. En el presente trabajo, la aplicación de 10^5 y 10^6 conidias/ml del aislamiento T109 incrementó significativamente el crecimiento ($p \leq 0.05$), pero este incremento no ocurrió cuando se aplicaron 10^4 , 10^7 y 10^8 conidias/ml. El crecimiento se incrementó en un rango específico de concentraciones de conidias. En forma similar, lo reportado en Ousley *et al.* (1993) coincide con lo reportado en el presente trabajo, en donde el aislamiento WT estimuló el crecimiento de la lechuga *Latuca sativa* L. cuando se lo cultivó durante 24 días, pero no estimuló el crecimiento cuando se lo cultivó 6 ó 48 días. Con el tiempo, días de cultivo, aumenta la concentra-

ción del hongo. El estímulo de crecimiento puede restringirse por una baja concentración de conidias, pero también por un exceso en la concentración de ellas.

La ausencia de estímulo por una baja concentración de conidias puede explicarse porque la cantidad de conidias aplicadas no es suficiente para compensar las necesidades que limitan el crecimiento de la planta. Por el contrario, la ausencia de estímulo por exceso se puede explicar debido a una competencia por recursos entre la planta y el hongo. También el estímulo del crecimiento puede inhibirse por un exceso del metabolito o nutriente que el hongo suministra a la planta. Aislamientos de *Trichoderma virens* productores de auxinas inhibieron el crecimiento lateral de las raíces de plántulas de *Arabidopsis thaliana*, pero aislamientos productores de menores concentraciones de auxina fueron capaces de estimularlo (Contreras-Cornejo *et al.*, 2009). El estímulo del crecimiento de las raíces de *A. thaliana* respondió a un rango de concentraciones como lo hizo el tomate en el presente trabajo. Una explicación para esta observación sería el efecto de la concentración del hongo aplicado en la composición proteica de las plantas. Las proteínas presentes en las hojas embrionarias del pepino variaron con la concentración aplicada del aislamiento T34 de *T. asperellum* (Segarra *et al.*, 2007). Cuando se aplicaron bajas concentración del aislamiento, las proteínas encontradas fueron diferentes a las encontradas cuando no se aplicó o cuando se aplicaron altas concentraciones del aislamiento (Segarra *et al.*, 2007). Esto indica claramente que el efecto de los aislamientos aplicados está influenciado por el rango de concentración de los mismos.

Conclusión

El estímulo del crecimiento causado por *T. asperellum* en plántulas de tomate, sólo ocurre con aislamientos y rangos de concentración de conidias específicos. La complementariedad que el hongo debe tener con la planta para compensar las necesidades que limitan su crecimiento, parece estar influenciada cualitativa y cuantitativa por el aislamiento y el rango de concentración aplicados, respectivamente.

Agradecimientos

Este trabajo fue parte del programa de investigación sobre el uso de *T. asperellum* para el control biológico de la sarna polvosa de la papa, el cual fue parcialmente financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Colciencias y la UNAL (DIME, QUIPU: 20201007168).

Referencias bibliográficas

- Contreras-Cornejo H.A., Macías-Rodríguez L., Cortés-Penagos C., López-Bucio J. 2009. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 149(3): 1579-1592. doi: 10.1104/pp.108.130369.
- Gilchrist E., Jaramillo S., Reynaldi S. 2009. Efecto sobre la sarna polvosa de cuatro aislamientos del hongo *Trichoderma asperellum* en tres tipos de suelo. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 62(1): 4783-4792.
- Gilchrist E., Soler J., Merz U., Reynaldi S. 2011. Powdery scab effect on the potato *Solanum tuberosum* ssp. andigena growth and yield. *Tropical Plant Pathology*. 36(6): 350-355. doi:10.1590/S1982-56762011000600002.
- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. 2004a. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. 2: 43-56. doi:10.1038/nrmi-cro797.
- Harman G.E., Petzoldt R., Comis A., Chen J. 2004b. 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*. 94(2): 147-153. doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.2.147.
- Hoyos-Carvajal L.M., Jaramillo S., Orduz S. 2008. Evaluación de *Trichoderma asperellum* como biorregulador de *Spongospora subterranea* f. sp. subterranea. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 61(2): 4496-4502.
- Hoyos-Carvajal L., Orduz S., Bissett J. 2009a. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropical regions. *Fungal Genetics and Biology*. 46(9): 615-631. doi: 10.1016/j.fgb.2009.04.006.
- Hoyos-Carvajal L., Orduz S., Bissett J. 2009b. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological control*. 51(3): 409-416. doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.07.018.
- Lindsey D.L., Baker R. 1967. Effect of certain fungi on dwarf tomatoes grown under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*. 57(1):262-263.
- Meier U. 2001. Estadios de las plantas mono-y dicotiledóneas. BBCH Monografía. Centro Federal de Investigaciones Biológicas para Agricultura y Silvicultura. 2a. Edición. 149 p.
- Ousley M.A., Lynch J.M., Whipps J.M. 1993. Effect of *Trichoderma* on plant growth: a balance between inhibition and growth promotion. *Microbial Ecology*. 26(3): 277-285. doi:10.1007/BF00176959.
- Ousley M.A., Lynch J.M., Whipps J.M. 1994a. Potential of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. *Biology and Fertility of Soils*. 17(2): 85-90. doi: 10.1007/BF00337738.
- Ousley M.A., Lynch J.M., Whipps J.M. 1994b. The effects of addition of *Trichoderma* inocula on flowering and shoot growth of bedding plants. *Scientia Horticulturae*. 59(2): 147-155. doi: 10.1016/0304-4238(94)90081-7.

- Schuster A., Schmoll M. 2010. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 87(3): 787-799. doi: 10.1007/s00253-010-2632-1.
- Segarra G., Casanova E., Bellido D., Odena M.A., Oliveira E., Trillas I. 2007. Proteome, salicylic acid and jasmonic acid changes in cucumber plants inoculated with *Trichoderma asperellum* T34. *Proteomics*. 7(21): 3943-3952. doi: 10.1002/pmic.200700173.
- Rabeendran N., Moot D.J., Jones E.E., Stewart A. 2000. Inconsistent growth promotion of cabbage and lettuce from *Trichoderma* isolates. *New Zealand Plant Protection*. 53:143-146.
- Tucci M., Ruocco M., De Masi L., De Palma M., Lorito M. 2011. The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Molecular Plant Pathology*. 12(4): 341-354. doi: 10.1111/j.1364-3703.2010.00674.x.
- Tyburski J., Krzemiński L., Tretyn A. 2008. Exogenous auxin affects ascorbate metabolism in roots of tomato seedlings. *Plant Growth Regulation*. 54(3): 203-215. doi: 10.1007/s10725-007-9241-8.
- Woo S.L., Scala F., Ruocco M., Lorito M. 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology*. 96(2): 181-185. doi: 10.1094/PHYTO-96-0181.
- Yedidia I., Srivastva A. K., Kapulnik Y., Chet I. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil*. 235(2): 235-242. doi:10.1023/A:1011990013955.