

# ANTAGONISMO *in vitro* DE *Trichoderma asperellum* CONTRA *Fusarium* sp. AGENTE CAUSAL DE GOMOSIS EN CÍTRICOS

*In vitro* ANTAGONISM OF *Trichoderma asperellum* AGAINST *Fusarium* sp., CAUSAL AGENT OF CITRUS GUMMOSIS

Silva-Martínez, K.L.<sup>1</sup>; Raúl Allende-Molar, R.<sup>2</sup>; Vázquez-Luna, D.<sup>3</sup>; González-Cárdenas, J.C.<sup>1</sup>; Murguía-González, J.<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana. Carretera Tuxpan-Tampico Km 7.5. CP 92860. Col. Universitaria. Tuxpan Veracruz. <sup>2</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD) - Unidad Culiacán. Km 5.5 carretera El dorado Campo El diez CP 80110. Culiacán, Sinaloa. <sup>3</sup>Facultad de Ingeniería en Sistemas de Producción Agropecuaria. Universidad Veracruzana. Facultad de Ingeniería en Sistemas de Producción Agropecuaria. Carretera Costera del Golfo km. 220. Col. Agrícola y Ganadera Michapan, C.P. 96100, Acayucan, Veracruz, México. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Región Orizaba-Córdoba. Universidad Veracruzana. Peñuela Amatlán SN, Centro, 94945 Amatlán de los Reyes Veracruz, Ver.

\*Autor de correspondencia: jmurguia@uv.mx

## RESUMEN

En esta investigación se evaluó la capacidad antagonica de una cepa de *Trichoderma asperellum* contra *Fusarium* sp., identificado como un agente causal de la gomosis en *Citrus sinensis*. Se estableció un diseño completamente al azar con tres tratamientos (T1=*T. asperellum* contra *Fusarium* sp.; T2=*T. asperellum*; T3=*Fusarium* sp.) y 10 repeticiones. Los datos de antagonismo se obtuvieron mediante la técnica de cultivos duales en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA); y cada 24 horas se obtuvieron porcentajes de inhibición del crecimiento radial (PICR). Los resultados indicaron el grado de antagonismo de *T. asperellum* (Ta15b), clasificándose en 2 y 1 de la escala de Bell, al enfrentarla contra *Fusarium* sp., el contacto entre hifas se presentó al cuarto día de haberse confrontado. Se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los tratamientos, el PICR varió de 71% a 86.6%. *T. asperellum* mostró competencia por espacio y nutrimentos frente a *Fusarium* sp. Los resultados sugieren que el primero podría ser un biocontrol efectivo para reducir el crecimiento radial de *Fusarium* sp.

**Palabras clave:** Control biológico; inhibición; enfermedades en plantas; cultivos duales.

## ABSTRACT

In this study, the antagonistic capacity of a strain of *Trichoderma asperellum* against *Fusarium* sp., was evaluated, which is identified as a causal agent of gummosis in *Citrus sinensis*. A completely random design was established, with three treatments (T1=*T. asperellum* versus *Fusarium* sp.; T2=*T. asperellum*; T3=*Fusarium* sp.) and 10 repetitions. The data for antagonism were obtained through the technique of dual cultures in potato dextrose agar (PDA) culture medium; and root growth inhibition percentages (RGIP) were obtained every 24 hours. The results indicated the degree of antagonism of *T. asperellum* (Ta15b), classifying it as 2 and 1 of the Bell scale, when confronting it against *Fusarium* sp.; the contact between hyphae was evident on the fourth day since being confronted. Significant differences were found ( $p \leq 0.05$ ) between the treatments; the RGIP varied from 71% to 86.6%. *T. asperellum* showed competition over space and nutrients against *Fusarium* sp. The results suggest that the first could be an effective biocontrol to reduce the radial growth of *Fusarium* sp.

**Keywords:** Biological control, inhibition, plant diseases, dual cultures.

**Agroproductividad:** Vol. 9, Núm. 6, junio. 2016. pp: 20-25.

**Recibido:** febrero, 2016. **Aceptado:** abril, 2016.

## INTRODUCCIÓN

**La citricultura** a nivel mundial, representa una oportunidad de ingresos en al menos 50 países, entre los que destacan: China, Brasil, Estados Unidos y México (FEDERCITRUS, 2015). En México, la producción de cítricos está concentrada en 549 mil hectáreas, donde se cultiva naranja (*Citrus sinensis*) (75%), limón (*Citrus sp.* (16%), mandarina (*Citrus x tangerina*) (5%) y toronja (*Citrus x paradisi*) (4%). La citricultura tiene importancia económica y social, debido a que se producen siete millones de toneladas de cítricos al año, con un valor de más de \$16,000 millones de pesos (SAGARPA-SIAP, 2014). En México, el estado de Veracruz es el principal productor con una superficie sembrada de 230 mil hectáreas, en las que se concentra el 45% de la producción total. Los cítricos son afectados por diversos factores que demeritan el valor comercial de la cosecha, incrementando costos y limitando la producción (Timmer *et al.*, 2000). Entre los factores más importantes se encuentran los problemas fitopatológico causadas por hongos debido a su persistencia y amplia distribución (Rocha-Peña y Peña, 2009). La gomosis de los cítricos es una enfermedad que puede ser ocasionada por diferentes patógenos, tales como, *Fusarium spp.*, cuya sintomatología es un exudado de goma en las ramas y en la base del tallo (Klotz, 1950). Para el control de esta enfermedad, se han propuesto diversas alternativas culturales, físicas, químicas y recientemente, mediante el uso de agentes biológicos. Tal es el caso de los organismos antagonistas, que inhiben el desarrollo de otros microorganismos, y los géneros más empleados son *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Trichoderma* (Ezziymani *et al.*, 2004). Con base en lo anterior, se evaluó la capacidad antagónica de *Trichoderma asperellum* frente a un aislado de *Fusarium sp.* proveniente de *Citrus sinensis*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Muestreo:** Las muestras fueron tomadas de 20 árboles de 16 años de la variedad valencia (*Citrus sinensis* L.), provenientes de una huerta ubicada en el ejido La Laja de Coloman, en Tuxpan, Veracruz, México. Se seleccionaron árboles con sintomatología típica de gomosis: exudado de goma, agrietamiento, presencia de cancro y exposición de leña (Acosta-Pérez *et al.*, 2014). Con una navaja esterilizada se cortaron pequeños segmentos de tejido vegetal de 2 mm de diámetro hasta alcanzar 2 mm de tejido sano, ubicados en los primeros 60 cm de la base del tronco.

**Procesamiento de la muestra.** Las muestras se desinfectaron por inmersión en una solución acuosa de hipoclorito de sodio a una relación de 1:3 v/v (10 mL de cloro y 30 mL de agua destilada estéril). Las muestras se sumergieron por 30 s, inmediatamente se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Cada fase de lavado fue de 60 s (Acosta-Pérez *et al.*, 2014). Se preparó el medio de cultivo Papa, Dextrosa y Agar (PDA), compuesto por 200 g de papa previamente pelada, 20 g de dextrosa (BDBioxon®), 15 g de agar bacteriológico (BDBioxon®) y 1000 mL de agua destilada, una vez mezclado se esterilizó en autoclave a una temperatura constante de 120 °C por 20 min. Posteriormente se dejó enfriar por 40 min y se vaciaron 25 mL aproximadamente en cada caja de Petri. hasta su solidificación y posteriormente se colocó un segmento de corteza infectada en cada placa con PDA.

**Identificación del patógeno.** La identificación del agente causal de la enfermedad se realizó mediante la observación directa de las características del micelio de la colonia y las estructuras reproductivas del hongo en medio de cultivo PDA, con la ayuda de un microscopio óptico, con los objetivos 10x y 40x, utilizando las claves taxonómicas descritas por Barnett y Hunter (1999) y Leslie y Summerell (2006).

**Obtención de los microorganismos.** La cepa de *Trichoderma asperellum* Ta15b fue proporcionada por AGROBIOL V&R SAC, aislada originalmente de suelos cultivados de aguacate (*Persea americana* Mill.) de la zona de El Porvenir, Perú. Mantenido en piezas pequeñas de papel con sílica gel dentro de un frasco refrigerado a 5 °C hasta su reactivación. La cepa se conservó en medio PDA a 9 °C. Se utilizó un diseño completamente al azar con 10 repeticiones y tres tratamientos, de los cuales dos representaron los testigos (antagonista y el patógeno por separado). Los tratamientos fueron: T1=*T. asperellum* Ta15b frente a *Fusarium sp.*; T2=*T. asperellum* Ta15b; y TC=*Fusarium sp.* Se utilizaron cajas Petri de vidrio de 9 cm de diámetro. Cada caja fue considerada como unidad experimental y se sembraron 10 con cada tratamiento.

### Evaluación *in vitro* de cepas de *Trichoderma asperellum* contra *Fusarium sp.*

En medio PDA se colocó una pieza pequeña de papel impregnado de *Trichoderma asperellum* (Ta15b). Transcurridos nueve días, el micelio cubrió por completo la caja Petri. Caso similar para el caso de *Fusarium sp.*,

llenando por completo la caja de Petri a los 14 días después de haberse reaislado. La evaluación se realizó empleando la técnica de cultivos duales colocando en un extremo un disco (de PDA+micelio de *Fusarium* sp. de 2 mm de diámetro) y en el extremo opuesto (un disco de PDA+micelio de *T. asperellum*) a una distancia de 5 cm aproximadamente entre ellos y a 1 cm del borde. Los controles de crecimiento fueron cada una de las cepas (antagonismo y patógeno) sembradas en cajas separadas. Las cajas Petri fueron incubadas a temperatura de 26 °C a 30 °C y luz ambiente. Se hicieron mediciones cada 24 h del crecimiento radial. El antagonismo de *T. asperellum* se comprobó estudiando las siguientes variables: Actividad antagónica, basado en la escala de Bell *et al.* (1982), Radio de crecimiento del antagonista (RCA), Radio de crecimiento del patógeno (RCP), y Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), determinado por la fórmula utilizada por Ezziyani *et al.* (2004).

$$PICR = (R1 - R2) / R1 \times 100$$

donde *R1* es el radio patógeno testigo y *R2* es el radio del patógeno enfrentado con el antagonista. El análisis estadístico fue varianza (Kruskal-Wallis) y medidas comparadas por la prueba estadística R (R CoreTeam, 2013).

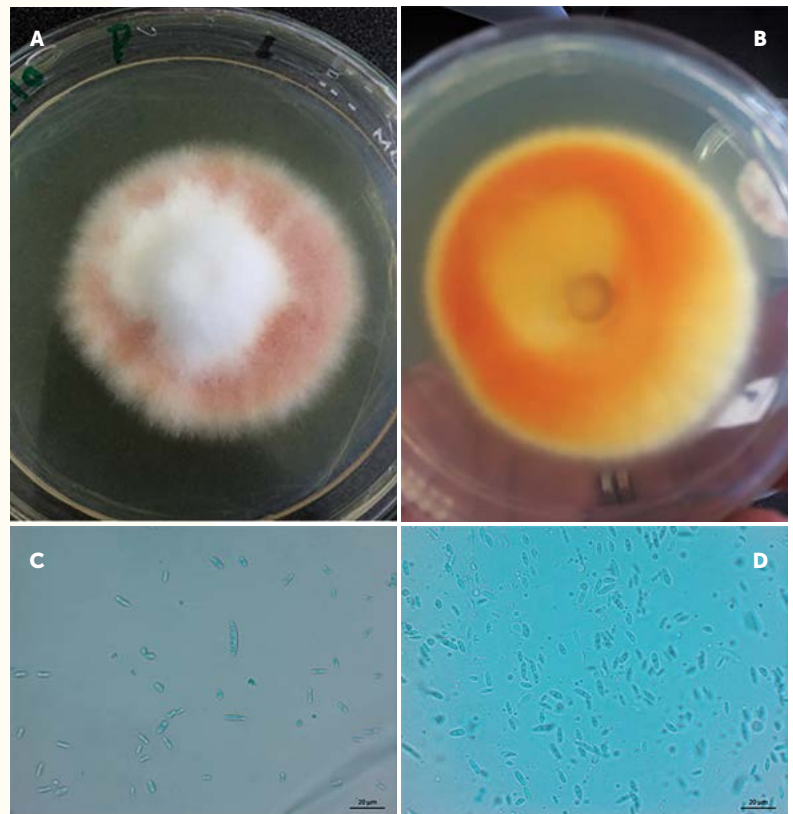
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislamientos obtenidos presentaron crecimiento radial en 72 horas, originando colonias de color blanco cristalino, algodonoso y en algunos casos con crecimiento un poco elevado; transcurridas 96 horas, algunas colonias se tornaron de naranja a color marrón (Figura 1 A, B). Se observaron en el microscopio hifas hialinas, septadas y pálidas, a partir del octavo día se obtuvieron esporas de tipo macroconidios: ligeramente curvas en forma de canoa, con dos o tres septos transversales de 20.93  $\mu\text{m}$  de largo y 3.425  $\mu\text{m}$  de ancho; y microconidios escasos, hialinos con forma elipsoidal, con 7.99  $\mu\text{m}$  de largo y 2.915  $\mu\text{m}$  de ancho (Figura 1 C, D).

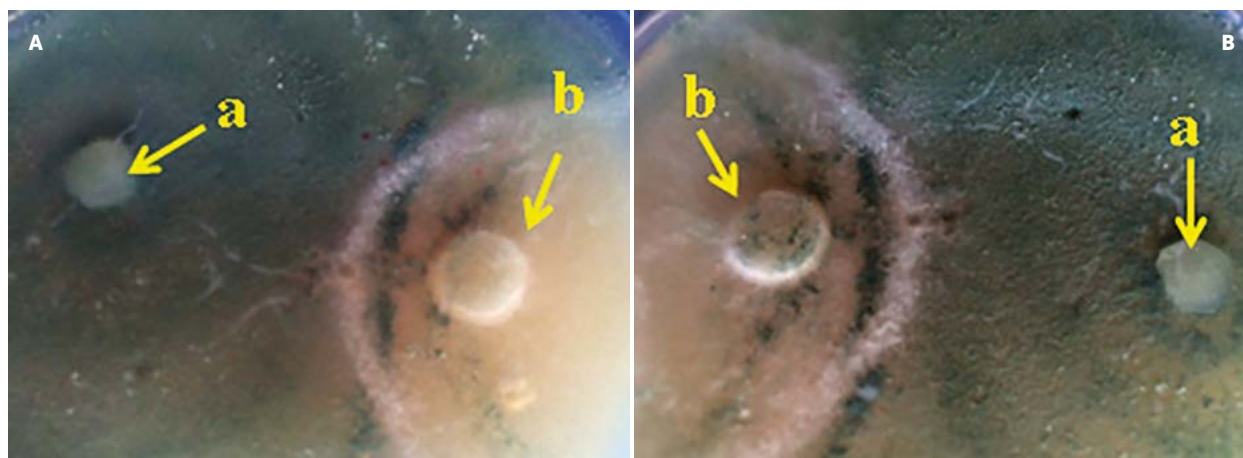
### Evaluación *in vitro* de cepas de *T. asperellum* contra *Fusarium* sp.

Las observaciones macroscópicas evidenciaron la interacción antagonista-patógeno (Figura 2), todos los aislamientos duales con *T. asperellum* presentaron radios de crecimientos superiores al patógeno de *Fusarium* sp. al cuarto día de haberse sembrado. Fernández y Suarez (2009) reportan 7.42 cm de crecimiento de *T. harzianum* al décimo día confrontado al patógeno: *F. oxysporum* con un crecimiento radial de 1.99 cm, estos resultados coinciden con los presentados por Suarez *et al.* (2008)

quienes encontraron un desarrollo radial de 7.5 cm de *T. harzianum* frente a *F. solani* (1.6 cm), como los obtenidos en este trabajo. Con respecto a la variable días al primer contacto entre hifas, Michel-Aceves *et al.* (2013) reportan que aislamientos de *Trichoderma* spp., frente a *Sclerotium rolfisii* Sacc., que ejercieron contacto a los dos días de haberse sembrado en cultivos duales. En este estudio, las cepas en aislamientos duales entraron en contacto a los cuatro días de haberse sembrado, los resultados coinciden con el tiempo reportado por Ezziyani *et al.* (2004), quienes mencionan que la zona de inhibición de *T. harzianum* frente a *Phytophthora capsici* aumenta con forme transcurre el tiempo y aumenta su capacidad de destrucción sobre el micelio.



**Figura 1.** Aislado de *Fusarium* sp. en medios de cultivo PDA, A: vista frontal, B: vista posterior. C-D: Macro y microconidios de *Fusarium* sp. observados en microscopio óptico a 40x.



**Figura 2.** Inhibición del crecimiento radial del antagonista al patógeno en pruebas duales, A) Disco de micelio de *Trichoderma asperellum*, B) Disco de micelio de *Fusarium* sp.

El análisis realizado indica que existen diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de inhibición obtenido en cada uno de las confrontaciones Patógeno-antagonista. Los resultados obtenidos demuestran que siete de las confrontaciones duales presentaron un PICR superior al 81%; clasificándose con un valor 2 de acuerdo a la escala de Bell *et al.* (1982), lo que representa un alto grado de inhibición (Cuadro 1) aunque sin alcanzar el grado máximo. Estos resultados son considerados con alto grado de inhibición, debido a que el antagonista tiene cualidades micoparasitarias. Guigón-López *et al.* (2010) obtuvieron porcentajes de inhibición de 5% a 14% en confrontaciones duales entre *T. asperellum* y *Fusarium* sp. lo cual pudo deberse a la producción de compuestos volátiles que inhibieron el crecimiento de *Trichoderma* spp. (Rios-Velsaco *et al.*, 2015). Sin embargo, Sánchez *et al.* (2015) y Rios-Velsaco *et al.* (2015) reportan entre 40% y 43.4% de inhibición de *T. atroviride* y *T. asperellum* respectivamente, contra *F. oxysporum* sugiriendo la presencia de compuestos bioactivos. Fernández y Suárez (2009) indicaron que *T. harzianum* produce el mayor PICR a los 10 días, con

valores superiores a 64% confrontado con *F. oxysporum*; sin embargo, Infante *et al.* (2011) indican que *T. asperellum* inhibe de 80% a 100% a *F. oxysporum*, estos resultados coinciden con los obtenidos por Martínez *et al.* (2013) quienes informan que *T. asperellum* inhibe el crecimiento de *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm en más de 75%, de forma semejante a los registrados en esta investigación. *Trichoderma* spp. ejerce un meca-

nismo de acción antagonica mediante la secreción de proteínas extracelulares (Cheng *et al.*, 2012). Lo anterior, coloca a *T. asperellum* en un grado 2 y 1 en la escala de Bell *et al.* (1982), y son cifras similares a las presentadas en este ensayo.

Al compararse el RCP con el RCA, se observó que el crecimiento radial del patógeno fue lento, alcanzando un promedio de 0.955 cm a

los nueve días en comparación del T3, que en el mismo tiempo alcanzó un crecimiento de 7.68 cm (Cuadro 2).

La evaluación estadística ( $p \leq 0,05$ ), mostró diferencias significativas entre las pruebas duales, donde se detectaron variaciones en el efecto inhibitorio que ejerció *T. asperellum* sobre la esporulación de *Fusarium* sp. (Figura 3).

**Cuadro 1.** Escala de antagonismo *in vitro* para *Trichoderma* spp. (Bell *et al.*, 1982).

Grados de la Escala	Características de cada grado de la escala
Grado 1	<i>Trichoderma</i> spp. crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre la superficie del medio de cultivo.
Grado 2	<i>Trichoderma</i> spp. crece al menos sobre las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo
Grado 3	<i>Trichoderma</i> spp. y el patógeno cubren aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo
Grado 4	El patógeno crece al menos en dos terceras partes del medio de cultivo limitando el crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp.
Grado 5	El patógeno crece sobre la colonia de <i>Trichoderma</i> spp. ocupando toda la superficie del medio de cultivo



**Cuadro 2.** Crecimiento micelial, porcentaje de inhibición y grado de antagonismo de *T. asperellum* y *Fusarium* sp. en cultivos duales.

<i>T. asperellum</i> Ta15b frente <i>Fusarium</i> sp. FUV19C (cm)	<sup>a</sup> RCA (cm) <i>T. asperellum</i>	<sup>b</sup> RCP (cm) <i>Fusarium</i> sp.	<sup>c</sup> PICR (%)	Antagonismo clase
7.5 - 1.2	8.22	7.94	73.33 e	2
7.5 - 1.3	8.13	7.86	71.11 f	2
7.5 - 0.8	8.32	7.72	82.22 c	1
7.5 - 0.85	8.32	7.7	81.11 c	1
7.5 - 0.6	8.39	7.5	86.67 a	1
7.5 - 1	8.28	7.7	77.78 d	1
7.5 - 0.6	8.18	7.5	86.52 a	1
7.5 - 1.2	8.14	7.54	72.73 e	2
7.5 - 1.3	8.07	7.68	71.11 f	2
7.5 - 0.7	8.16	7.58	84.09 b	1

a=Radio del crecimiento del antagonístico, b=Radio del crecimiento del patógeno, c=Porcentaje de inhibición del crecimiento radial.

## CONCLUSIONES

*T. asperellum* mostró antagonismo *in vitro* frente al crecimiento de *Fusarium* sp., por lo que el uso de *T. asperellum* puede ser efectivo en reducir daños de gomosis en cítricos.

## AGRADECIMIENTOS

A la M. Sc. Fanny I. Varela Rodríguez y al Tc. Jorge L. Huamanchumo Neyra por la donación de *Trichoderma asperellum*, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (ConacyT) por el financiamiento a los estudios de Silva-Martínez.

## LITERATURA CITADA

Acosta-Pérez J.A., Ortiz-García C.F., Zaldívar-Cruz J.M., Rodríguez-Cuevas M., Bautista-Muñoz C.C., De la Cruz Castillo-Aguilar C. 2014. Identificación del agente causal e importancia de la gomosis en la zona citrícola de Huimanguillo, Tabasco, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 28(3): 245-258.

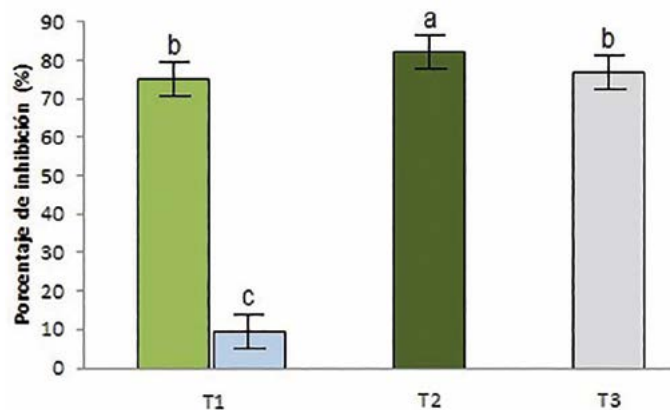
Barnett H.L., Hunter B.B. 1999. *Illustrated General of Imperfect Fungi*, 4th edition, Burgess Publishing Company, Minnesota, EE. UU. 218 p.

Bell D., Well H., Markham C. 1982. "In vitro" antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382.

Cheng, C.H., Yang, C.A., Peng K.C. 2012. Antagonism of *Trichoderma harzianum* ETS 323 on *Botrytis cinerea* mycelium in culture conditions. *Phytopathology*, 102(11): 1054-1063.

Ezziyyani M., Sánchez C.P., Requena M.E., Rubio L., Castillo M.E.C. 2004. Biocontrol por *Streptomyces rochei*-Ziyani-, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. In *Anales de Biología*. 26: 61-68.

Fernández B. R., Suárez M.C. 2009. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium oxysporum*



**Figura 3.** Efecto de tratamientos sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento radial entre *Trichoderma asperellum* frente a *Fusarium* sp. T1=*T. asperellum*-Ta15b frente *Fusarium* sp, T2=*T. asperellum* Ta15b, y T3=*Fusarium* sp. (Medias con letras iguales estadísticamente no difieren entre sí, con la prueba de medias de Tuckey  $\alpha=0.05$ )

Sch. f.sp *passiflorae* en maracuyá (*Passiflora edulis* Sims var. *flavicarpa*) del municipio zona bananera colombiana. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 62: 4743-4748.

FEDERCITRUS. 2015. La actividad citrícola Argentina. Federación Argentina del Citrus. Informa Sector Citrícola. Sistemas productivos regionales-CFI. 4 p. [http://www.feder citrus.org/noticias/upload/informes/La\\_Actividad\\_Citrícola\\_2015.pdf](http://www.feder citrus.org/noticias/upload/informes/La_Actividad_Citrícola_2015.pdf). Fecha de consulta 2 de enero de 2016.

Guigón-López C., Guerrero-Prieto V., Vargas-Albores F., Carvajal-Millán E., Ávila-Quezada G.D., Bravo-Luna L., Lorito M. 2010. Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento *in vitro* y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2): 87-96.

Infante D., González N., Reyes Y., Martínez B. 2011. Evaluación de la efectividad de doce cepas de *Trichoderma asperellum*

- Samuels sobre tres fitopatógenos en condiciones de campo. *Revista de Protección Vegetal*, 26(3): 194-197.
- Klotz L.J. 1950. Gum diseases of *Citrus* in California. Circular. California Agricultural Experiment Station. 396 p.
- Leslie J.F., Summerell B. A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing. Oxford (England). 387 p.
- Martínez B., Pérez J., Infante D., Duarte Y., Moreno M. 2013. Antagonismo de aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm. *Revista de Protección Vegetal*, 28(3): 192-198.
- Michel-Aceves A.C., Otero-Sánchez M.A., Ariza-Flores R., Barrios-Ayala A., Alarcón-Cruz N. 2013. Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuete. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 17(3): 89-107.
- R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org>.
- Rios-Velsaco C., Caro-Cisneros J., Berlanga-Reyes D., Ruiz-Cisneros M.F., Ornelas-Paz J., Salas-Marina M., Guerrero-Prieto V. 2015. Identificación y actividad antagónica in vitro de aislados de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp. contra hongos fitopatógenos comunes. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 34(1): 84-99.
- Rocha-Peña M.A. Padrón-Chávez J.E. 2009. El cultivo de los cítricos en el estado de Nuevo León. Libro científico. 325-328 pp.
- Rocha-Peña M.A., Peña del Río M.A. 2009. Prevención y manejo de enfermedades de cítricos. En: Rocha-Peña, M.A., y Padrón-Chávez, J.E. (eds). *EL cultivo de los cítricos en el estado de Nuevo León. Libro Científico No. 1*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. CIRNE. Campo Experimental General Terán. México. 324-356 pp.
- SAGARPA-SIAP 2014. Anuario estadístico de la producción agrícola. [http://reportes.siap.gob.mx/aagricola\\_siap/icultivo/index.jsp](http://reportes.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp). Fecha de consulta 15 de enero del 2016
- Sánchez A.D., Barrera V., Reybet G.E., Sosa M.C. 2015. Biocontrol con *Trichoderma* spp. de *Fusarium oxysporum* causal del "mal de almácigos" en pre y post emergencia en cebolla. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 114(1): 61-70.
- Suárez M.C.L., Fernández B.R.J., Osvaldo V.N, Gámez C.R.M., Páez R.A.R. 2008. Antagonism *in vitro* of *Trichoderma harzianum* Rifai on *Fusarium solani* (Mart.) associated with the wilt in maracuyá. *Rev. Colomb. Biotecnol.* X(2): 35-43.
- Sanmartín N.P., López X., Rueda E.A. 2012. Análisis del modo de acción y de la capacidad antagónica de *Trichoderma asperellum* sobre *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium* sp. *Revista Tumbaga* 2: 1-21.
- Timmer L.W., Garnsey S.M., Graham J.H. 2000. *Compendium of Citrus Diseases*, 2nd edition. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

