

Hongos antagonísticos nativos de *Vicia faba* L. con capacidad de biocontrol hacia *Botrytis fabae* S.

Antagonistic native fungi of *Vicia Faba* L. WITH Biocontrol Capacity To *Botrytis fabae* S.

Norma Condori Ticona¹, Betsabe Leon Ttacca², Juan G. Zapana Pari²,

¹Tesista de Pre Grado de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica

²Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica - Facultad Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano Puno Perú. Correspondencia e-mail: betsalet@yahoo.es

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Artículo recibido 25-04-2016
Artículo aceptado 31-08-2016
On line: 21-09-2016

PALABRAS CLAVES:

Botrytis fabae S.,
Trichoderma,
Clonostachys,
biocontrol,
hongo,
antagonista

ARTICLE INFO

Article received 25-04-2016
Article accepted 31-08-2016
Online: 21-09-2016

KEY WORDS:

Botrytis fabae S.,
Trichoderma,
Clonostachys,
biocontrol,
fungus,
antagonist

RESUMEN

La mancha chocolate en el haba, es causada por el fitopatógeno *Botrytis fabae* S, este se caracteriza por ser muy virulento y reducir hasta dos tercios el rendimiento del cultivo. El presente trabajo se realizó con el objetivo de seleccionar e identificar hongos antagonísticos nativos de haba (*Vicia faba* L.) con capacidad de biocontrol hacia *B. fabae* S. Para aislar e identificar estos hongos se colectaron muestras de la rizósfera de plantas de habas de cinco distritos (Ilave, Acora, Juli, Platería y Chucuito) de la Región Puno - Perú y se determinó *In vitro* la capacidad antagonística de hongos nativos de haba hacia *Botrytis fabae* S. Para lo cual, se realizó pruebas de antibiosis y micoparasitismo, con la producción de metabolitos solubles inhibitorios por los antagonistas y enfrentamiento dual del patógeno y antagonista, en donde se evaluó la inhibición del crecimiento micelial del patógeno y el porcentaje de colonización del hongo antagonístico respectivamente. Se logró aislar 17 cepas de hongos antagonísticos nativos de la rizósfera de habas y se identificó a los géneros de *Trichoderma* y *Clonostachys* como hongos antagonísticos. La cepa TRCH-12 obtuvo el valor más alto con 54.6% a comparación de las cepa TRCH-11 tuvo menor efecto hacia el patógeno con 3.62% de inhibición micelial. Así mismo, 14 cepas pertenecientes al género *Trichoderma* y una cepa de *Clonostachys* resultaron ser micoparasitos agresivos, que completamente colonizaron al patógeno. Sin embargo, cepas del género *Trichoderma* TRI-1 (76.67 %) y TRCH-13 (73.33%) fueron los que mostraron ser micoparasitos no muy agresivos para *Botrytis fabae* S.

ABSTRACT

The chocolate spot on the bean, is caused by the phytopathogen *Botrytis fabae* S, it is characterized because of be very virulent and reduce up to 60% crop yield. This work was carried out with the aim of selecting and identifying native antagonistic fungi from bean (*Vicia faba* L.) with biocontrol capacity to *B. fabae* S. To isolate and identify these fungi were collected samples from the rhizosphere of plants beans from five districts (Ilave, Acora, Juli, Silverware and Chucuito) of the Puno region and was determined *In vitro* antagonistic capacity of these native fungi to *Botrytis fabae* S. For which, antibiosis and micoparasitism testing were performed with production of inhibitory soluble metabolites by the antagonists and dual confrontation for pathogen and antagonist, where was evaluated the inhibition of mycelial growth of the pathogen and the percentage of colonization of the antagonistic fungus respectively. It was isolated 17 isolates of native antagonistic fungi from the rhizosphere of beans and it was identified to the genus *Trichoderma* and *Clonostachys* as antagonistic fungi. The TRCH-12 isolate had the highest value with 54.6% in comparison with the TRCH-11 isolate had less effect with 3.62% of mycelial inhibition of pathogen. Furthermore, 14 isolates belonging to the genus *Trichoderma* and a isolate of *Clonostachys* proved to be aggressive mycoparasites that completely colonized the pathogen. However, isolates of the genus *Trichoderma* TRI-1 (76.67%) and TRCH-13 (73.33%) proved to be not very aggressive mycoparasites for *Botrytis fabae* S.

INTRODUCCIÓN

La haba (*Vicia faba* L.) es una de las leguminosas más cultivadas, de gran valor nutritivo y ampliamente utilizada tanto para consumo humano como forraje para animales (Crepon *et al.*, 2010). Este cultivo se ve seriamente dañado por enfermedades, siendo la de mayor importancia la mancha chocolate causado por *B. fabae*, este hongo ataca tallos, hojas, vainas y flores, disminuyendo la producción hasta en un 60% (Ajquejay, 2013). Además, es una de las principales enfermedades que causan pérdidas económicas en el cultivo de habas en la Región Puno debido a los escasos métodos de control del agente causal *Botrytis fabae*; siendo el uso de hongos antagonistas rizosféricos nativos de habas una alternativa de control ecológica y amigable con el medio ambiente y así incrementar la producción orgánica del cultivo en la región.

En el suelo existen diversos microorganismos con capacidad antagonista hacia fitopatógenos, pero el más estudiado es *Trichoderma*. Este es un hongo saprófito que ha sido aislado comúnmente del suelo, superficie de las raíces de las plantas, sobre cortezas en descomposición, en el interior de troncos, y sobre otros hongos (Howell y Stipanovic, 1995). Algunas especies de *Trichoderma*.

El control biológico con microorganismos antagonistas comenzó a ser investigado de forma constante a partir de los años 80 (Hernández-Lauzardo *et al.* 2007). Gran parte de las investigaciones referentes al control biológico que se han realizado con hongos filamentosos, con especies de *Trichoderma* y *Clonostachys*, de estos dos géneros, *Trichoderma*, es el que ha recibido mayor atención, ya que se conoce que especies de este género son capaces de actuar como agente de control biológico contra fitopatógenos (Harman, 2006) como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium ultimum* y *Fusarium oxysporum*, causantes de enfermedades importantes en cultivos rábano, clavel, frijol, tomate, café, haba y cítricos entre otros (Tovar, 2008).

Así mismo, estas especies de *Trichoderma* normalmente son consideradas como habitantes

saprotrofos del suelo, pero algunos existen en las plantas hospedantes como simbiosis que interactúan con la planta (Harman *et al.*, 2004) y son ampliamente utilizadas como agente de control biológico contra varios hongos fitopatógenos y nematodos, otras para la producción de enzimas y antibióticos activos contra hongos, bacterias y células cancerígenas humanas, en la biorremediación de ambientes contaminados, y como fuente de genes para la obtención de plantas transgénicas (Harman, 2000; Howell, 2003). Así mismo, *Trichoderma harzianum* se ha utilizado en el control de hongos como *Botrytis cinerea* en uvas y manzana, controlando parcialmente la enfermedad in situ (Latorre *et al.*, 1997).

Los mecanismos de biocontrol atribuidos a *Trichoderma* spp. son: micoparasitismo, competencia por los nutrientes y antibiosis, siendo el micoparasitismo el principal mecanismo de acción de este hongo. Este biocontrolador cubre al hongo, ataca y penetra en sus células causándole un daño extensivo alterando y degradando la pared celular, causa retracción de la membrana plasmática y desorganización del citoplasma (Tronsmo and Raa, 1997).

Esta investigación pretende aislar e identificar hongos antagonistas nativos de la rizósfera de haba (*Vicia faba* L.) y determinar *In vitro* la capacidad antagonista de hongos nativos de haba hacia *Botrytis fabae* S.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Aislamiento e identificación de hongos antagonistas
Durante el mes de febrero 2015, se colectaron muestras de suelo de la rizósfera de plantas de habas de la variedad gigante de Copacabana de cinco campos de cultivos en horas de la mañana entre 7 a 9 am en los distritos Chucuito, Acora, Plateria, Ilave, Juli de la región Puno - Perú. Por cada campo de cultivo se seleccionó tres plantas al azar. Las muestras fueron depositadas en bolsas de papel, posteriormente estas fueron llevadas al laboratorio de Fitopatología para su procesamiento. Para el aislamiento de estos hongos a partir de la rizósfera se realizó mediante el método de diluciones seriadas, se extrajo 1ml de la dilución madre y fue diluido en 9ml de agua destilada

esteril (ADE) en tubos de ensayo, hasta conseguir la dilución deseada (10⁻³). Se tomó 1ml (de la dilución final) para ser transferido a placas Petri y así mismo se incorporó 20 ml de medio papa sacarosa agar (PSA), luego fueron incubadas a 25°C. Para la identificación se realizó observaciones de las características culturales de la colonia y microscópicas, utilizando las claves de Barnett (1998) & Barrón (1968). Las cepas identificadas como posibles hongos antagónicos fueron purificadas para las pruebas de antagonismo *In vitro*.

- Aislamiento de *Botrytis fabae*

Para el aislamiento de *B. fabae* se realizó a partir de hojas infectadas con el patógeno de plantas de habas de tres meses de edad, estas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% durante 3 minutos y enjuagadas con agua destilada estéril, luego que se sembró trozos de tejido de 0.5cm² en placas petri conteniendo medio de cultivo PSA e incubadas a 25°C durante 7 días. (Guadarrama et al., 2006)

- Capacidad antagónica (Metodología de Bailey et al., 2008, modificado).

Para la prueba de antibiosis, se produjo metabolitos secundarios solubles inhibitorios de las 17 cepas seleccionadas de los hongos antagónicos de los géneros *Trichoderma* y *Clonostachys*. Para lo cual, las cepas se sembraron en placas petri conteniendo medio PSA e incubados a 25°C para promover la esporulación. A partir de colonias de 5 días de edad del hongo antagónico, se obtuvieron 4 discos de 5mm de diámetro de medio PSA, estos discos fueron depositados en matraces con caldo de extracto de malta (60ml). Estos fueron agitados a 110rpm en el agitador orbital durante siete días. Posteriormente, el micelio fue removido por filtración, luego se extrajo 15ml del filtrado y se colocó en baño maría a 90°C por una hora, después se agregó PSA (2% de agar) de igual volumen y se transfirieron en placas petri, de 55 x 15mm en el centro de las placas se inocularon 5mm de medio con micelio del patógeno *Botrytis fabae* S. de una edad de crecimiento de 10 a 15 días respectivamente, se realizó tres repeticiones por filtrado y las placas fueron incubados a temperatura de 25°C. Para los controles se utilizó un se preparó solo con el filtrado del correspondiente un caldo de extracto de malta sin inóculo inocular los

antagonistas. La inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis fabae* S., se registró como la diferencia entre la media del crecimiento radial en la presencia y ausencia del filtrado fungal.

Para la prueba de Micoparasitismo (Metodología utilizada por Bailey et al., 2008, modificado), se realizó la prueba de enfrentamiento dual, en donde se colocó discos de patógeno de 5mm a un extremo de la placa petri e incubado durante tres días a 25°C. Posteriormente se extrajo un disco de 5mm de diámetro de inóculo de una colonia joven de cepas de hongos antagónicos y fue enfrentado por el patógeno en una placa petri (9 cm de diámetro) se realizó 3 repeticiones (placas petri) por cada cepa de hongos antagónicos, las placas fueron incubadas a 25°C. Por cada tratamiento (cepa de hongo antagónico) al cabo de trece días de incubación, con la ayuda de un sacabocado de 5mm de diámetro se extrajo diez discos cerca al punto de inóculo del patógeno y fueron localizados en placas conteniendo medio PSA e incubados a 25°C y se observó el crecimiento del hongo antagónico o el patógeno, y se determinó el porcentaje de colonización del hongo antagónico.

- Análisis Estadístico

El diseño estadístico que se empleó para la prueba de control *In vitro* fue el diseño completamente al azar (DCA), se trabajó con 17 tratamientos y 3 repeticiones o placas, el parámetro que se evaluó en esta prueba fue el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial se tuvo que expresar en grados, para tal propósito se extrajo el arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción del porcentaje de inhibición, multiplicada por 180/π, luego se analizaron utilizando el programa InfoStat/Profesional versión 1.1 (InfoStat, 2002), realizando los análisis de varianza (ANVA), prueba de Duncan, a un nivel de significancia de 0,05.

RESULTADOS

Aislamiento e identificación de hongos antagónicos nativos de la rizósfera de haba (*Vicia faba* L.).

Los géneros que se lograron identificar en la rizósfera de habas en los cinco distritos de la Región Puno como antagonistas fueron *Trichoderma* sp y *Clonostachys* sp. En la tabla 1 se muestran el número

de cepas que fueron aisladas de la rizósfera de haba de cinco distritos de la Región Puno. De los Distritos de Ilave y Acora se identificó y seleccionó una cepa del género *Trichoderma*, en el distrito Juli se identificó dos géneros, siendo tres cepas del género *Trichoderma* y una cepa del género *Clonostachys*, en el distrito de Platería se identificó cuatro cepas del género *Trichoderma* y en el distrito de Chucuito se identificó 7 cepas de *Trichoderma* sumando un total de 17 cepas identificadas y seleccionadas de hongos antagonistas nativos de la rizósfera de haba.

Tabla 1: Número de cepas de hongos antagonistas aislados de la rizósfera de *Vicia faba* L. en cinco distritos de la Región Puno.

DISTRITOS	GÉNERO DE HONGOS ANTAGONÍSTICOS	CEPAS	TOTAL DE CEPAS
ILAVE	<i>Trichoderma</i>	TRI-1	1
JULI	<i>Trichoderma</i>	TRJ-2, TRJ-3, TRJ-4	3
	<i>Clonostachys</i>	CLRJ-5	1
ACORA	<i>Trichoderma</i>	TRA-6	1
PLATERIA	<i>Trichoderma</i>	TRPL-7, TRPL-8, TRPL-9, TRPL-10	4
CHUCUITO	<i>Trichoderma</i>	TRCH-11, TRCH-12, TRCH-13, TRCH-14, TRCH-15, TRCH-16, TRCH-17	7
TOTAL			17

Los géneros que se lograron identificar en la rizósfera de habas en los cinco distritos de la Región Puno como antagonistas fueron *Trichoderma* sp y *Clonostachys* sp (Figura 1).

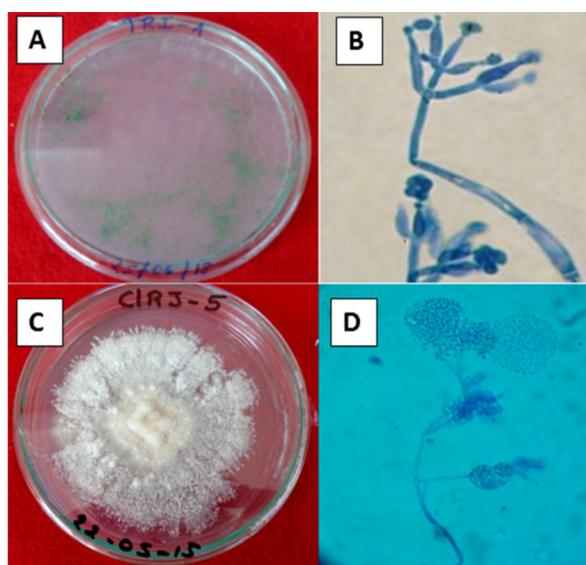


Figura 1. Características culturales y microscópicas de hongos antagonistas. A) Desarrollo de la colonia de *Trichoderma* en medio PSA. B) Conidias y conidióforos de *Trichoderma*. C) Desarrollo de la colonia de *Clonostachys* en medio PSA. D) Conidias y conidióforos de *Clonostachys*. (40X).

Capacidad antagonista de hongos nativos de haba hacia *Botrytis fabae* S.

Antibiosis

En la figura 2, se observa el efecto de los metabolitos secundarios de 17 cepas de hongos antagonistas en la inhibición micelial de *Botrytis fabae* S., en donde se encontró que existen diferencias significativas entre las cepas. Los metabolitos obtenidos del género *Trichoderma* tuvieron mayor efecto sobre *Botrytis fabae* S. con valores comprendidos entre 54.6% de inhibición micelial en comparación de *Clonostachys* con 5.28%.

Del total de cepas estudiadas, los metabolitos secundarios obtenidos de la cepa TRCH-12 obtuvo el valor más alto con 54.6% en la inhibición micelial del patógeno (Figura 3), seguidos de TRPL-9, TRCH-17, TRI-1 que obtuvieron valores de 33.71%; 27.15% y 23.98 % respectivamente; así mismo, los metabolitos de TRA-6, TRJ-3, TRCH-13, TRCH-15, TRPL-10, TRJ-2, TRCH-14 y TRPL-7, mostraron valores considerables entre 19.23% al 8.45%. Sin embargo, las cepas TRPL-8, TRCH-16, CLRJ-5, TRJ-4 y TRCH-11 tuvieron menor efecto hacia el patógeno con 5.88%, 5.73%, 5.28%, 4.75% y 3.62% de inhibición micelial respectivamente.

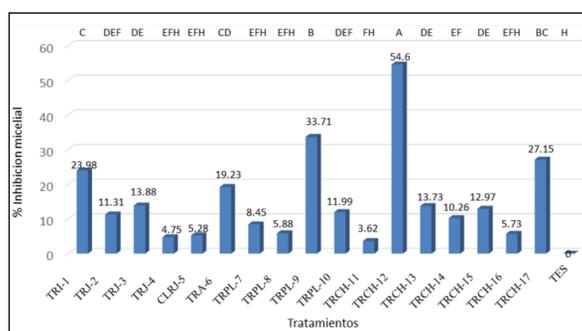


Figura 2: Porcentaje de inhibición micelial de *Botrytis fabae* S. en presencia de metabolitos secundarios de cepas de hongos antagonistas nativos de: *Clonostachys* (CLRJ-5), *Trichoderma* (TRI-1, TRJ-2, TRJ-3, TRJ-4, TRA-6, TRPL-7, TRPL-8, TRPL-9, TRPL-10, TRCH-11, TRCH-12, TRCH-13, TRCH-14, TRCH-15, TRCH-16, TRCH-17). Las letras diferentes indican diferencias significativas ($p=0.05$)

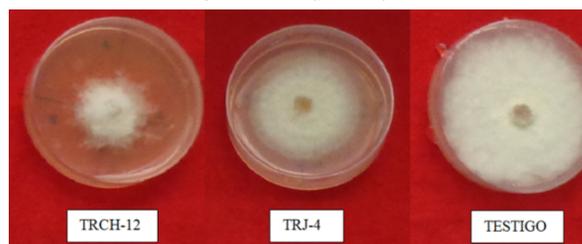


Figura 3. Comportamiento del crecimiento micelial de *Botrytis fabae* S., en presencia de metabolitos inhibidores de las cepas de hongos antagonistas nativos del género *Trichoderma* (cepas TRJ-4 y TRCH-12) en comparación al testigo.

Micoparasitismo

En la figura 4 se observa el porcentaje de micoparasitismo de *Botrytis fabae* S. por hongos antagónicos nativos, donde las 17 cepas evaluadas, resultaron ser micoparásitos presentando valores comprendidos entre 73.33 a 100% de colonización del patógeno por las cepas de los géneros *Trichoderma* y *Clonostachys*, siendo 15 cepas que completamente colonizaron al patógeno y fueron considerados como micoparásitos más agresivos, a tal punto que el patógeno no puede ser recuperado (Figura 6), a diferencia de las otras cepas como TRI-1 (76.67%) y TRCH-13 (73.33%).

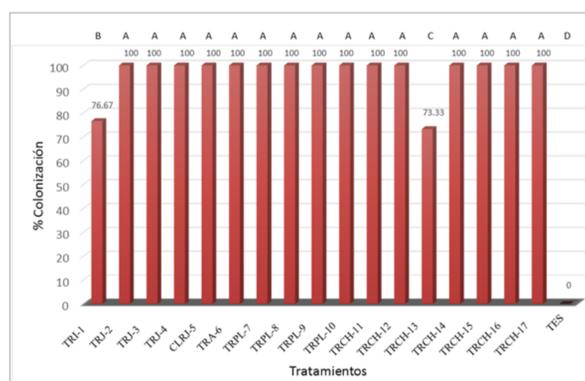


Figura 4: Porcentaje de micoparasitismo de *Botrytis fabae* S., en presencia de cepas de hongos antagónicos nativos de la rizósfera de habas: *Clonostachys* (CIRJ-5), *Trichoderma* (TRI-1, TRJ-2, TRJ-3, TRJ-4, TRA-6, TRPL-7, TRPL-8, TRPL-9, TRPL-10, TRCH-11, TRCH-12, TRCH-13, TRCH-14, TRCH-15, TRCH-16, TRCH-17)

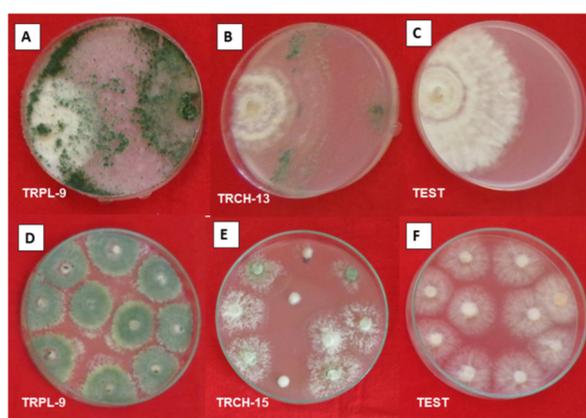


Figura 5. Resultado de la prueba de micoparasitismo. A, B y C. Colonización de cepas de *Trichoderma* (TRPL-9, TRCH-13) en placas precolonizadas por *Botrytis fabae* S (TEST). D, E y F. Reaislamiento de *Botrytis fabae* S. a partir de colonias micoparasitadas por cepas de *Trichoderma* (TRPL-9 y TRCH-15) en comparación al testigo (TEST).

DISCUSIÓN

Según las claves taxonómicas de Barnett (1998) y Barron (1968), 16 cepas de hongos aislados de la rizósfera de habas pertenecen al género *Trichoderma* por presentar las siguientes características: Conidióforos hialinos, erectos, ramificados, no verticilados, fiálides simples o en grupos; conidia hialina, unicelulada, ovoide, nace en grupos de conidias; saprofitos de suelo y de madera, muy común algunas especies como parásitos de hongos. Sin embargo, una cepa pertenece al género *Clonostachys* por presentar las siguientes características: conidióforos septados, la porción superior lleva ramificaciones peniciladas como una escoba, similar al género *Penicillium*; conidia hialina, con brillo cuando está en masas, unicelulada, producido apicalmente en forma sucesiva en masas mucilaginosas; saprófito y común en el suelo.

Los resultados en la prueba de antibiosis indican que una cepa del género de *Trichoderma* fue significativo (TRCH-12) con un 54.60% de inhibición micelial de *B. fabae*, similares resultados concuerda con el trabajo realizado por Ciancas (2006), en donde evaluó la actividad antagónica de la cepa *Trichoderma inhamatum* Bol 12 QD-1, mostrando una efectividad del 80% y 61% respectivamente hacia *B. cinerea*. Así mismo, Espinal et al. (2010), indican la actividad biocontroladora de *Trichoderma inhamatum* frente a *Botrytis fabae* fue 51.21% de inhibición micelial del patógeno.

Además, los resultados concuerdan con lo reportado de varios trabajos de investigación, donde mencionan que especies de *Trichoderma* son antagonistas de varios patógenos de plantas. Bailey et al. (2008), demuestran la importancia de sustratos de crecimiento en la producción de metabolitos inhibitorios solubles a *M. roseri*; así mismo, indica que cepas de *Trichoderma* endófito, llegaron a inhibir el crecimiento de *M. roseri* hasta un 50%. Resultados similares fueron obtenidos en este estudio donde se obtuvo valores de inhibición hasta un 54.6% por la cepa TRCH-12. Así mismo, Mpika et al (2009), reporta que aislamientos de *Trichoderma* de la rizósfera de cacao, redujeron el crecimiento micelial

de *P. palmivora* en más del 50%. Un caso de micoparasitismo, fue observado en un estudio que realizaron Mejia, et al. (2008), donde una cepa de *Trichoderma* de cacao parasito el micelio de *M. royeri*. Además, Bailey et al. (2008), indican que cepas de *Trichoderma* inhibieron completamente el crecimiento de *M. royeri* en la selección de antibiosis pero no tuvieron efecto en micoparasitar; sin embargo, nuestros resultados fueron lo contrario, donde todas las cepas micoparasitaron e inhibieron el crecimiento micelial de *B. fabae*. Siendo la cepa TRCH-12 quién presento una alta actividad de antibiosis y micoparasitismo para *B. fabae*.

Sin embargo, en el trabajo de investigación de Guadarrama et al. (2006), indica tanto como el testigo y el control biológico *Trichoderma harzianum* se presentó una inhibición en menor grado de un 4% y 8%, lo cual concuerda con los resultados de esta investigación, donde cuatro cepas (TRPL-8, TRCH-16; TRJ-4 y TRCH-11) tuvieron menor efecto con valores menores a 5.88% de inhibición micela de *B. fabae*.

En general, especies de *Trichoderma* antagonizan a los fitopatógenos por competencia, parasitismo, antibiosis ó por una combinación sinérgica de estos modos de acción (Haggag et al., 2001)

Por otro lado, el género *Clonostachys* tuvo efecto en micoparasitar a *B. fabae*, lo cual concuerda con Zaldúa y Sanfuentes (2010), donde cepas de *Clonostachys rosea*, tuvieron efecto sobre *Botrytis cinerea*, con los metabolitos volátiles, se redujo el crecimiento micelial de *B. cinerea* hasta 87% y con los metabolitos difusibles hasta 73%; sin embargo, en nuestros resultados la cepas de *Clonostachys* (CLRJ-5) presento un 5.28% de inhibición y un 100% de colonización, esto nos indica que el mecanismo de acción de esta cepa es el micoparasitismo hacia *B. fabae*. Además, en el trabajo de Guerrero et al (2014) en su trabajo de investigación sobre *Sclerotium rolfsii*, se observó que *Clonostachys* fue menos efectivo en el biocontrol de *Sclerotium rolfsii*.

CONCLUSIONES

Se logró aislar 17 cepas de hongos antagonicos nativos de la rizósfera de habas de cinco distritos de la Región Puno (Ilave, Acora, Juli, Platería y Chucuito) y se identificó a los géneros de *Trichoderma* y *Clonostachys* como hongos antagonicos.

De la prueba de antibiosis, los metabolitos secundarios obtenidos del aislamiento TRCH-12 obtuvo el valor más alto con 54.6% en la inhibición micelial de *B. fabae*, seguidos de TRPL-9, con 33.71%; a comparación de las cepa TRCH-11 tuvo menor efecto hacia el patógeno con 3.62% de inhibición micelial respectivamente.

En la prueba de micoparasitismo, 14 cepas pertenecientes al género *Trichoderma* y una cepa de *Clonostachys* resultaron ser micoparasitos agresivos, que completamente colonizaron al patógeno (100%). Sin embargo, cepas del género *Trichoderma* TRI-1 (76.67%) y TRCH-13 (73.33%) fueron los que mostraron ser micoparasitos no muy agresivos para *Botrytis fabae*S.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ajquejay, E. 2013. Evaluación del rendimiento de tres variedades de haba (*Vicia faba*), con calidad de grano para la exportación, en Joya Grande, Zaragoza. Guatemala. Pag. 05
- Bailey, B.A.; Bae, H.; Strem, M.D.; Crozier, J.; Thomas, S.E.; Samuels, G.J.; Vineyard, B.T.; Holmes, K.A. Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. Biological Control, vol. 46, p. 24-35, 2008.
- Barron, G.L. 1968. The genera of Hyphomycetes from soil. The Williams and Wilkins Co. Baltimore. Canada. Pag. 363.
- Barnett, H.L.; Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Third Edition. Macmillan Publishing Company. USA. 218 p.
- Ciancas, J. J. 2006. Efecto biocontrolador de la cepa *Trichoderma inhamatum* Bol 12 QD sobre el fitopatógeno *Botrytis cinerea* causante de la "Mancha chocolate" en cultivos de haba de la

- comunidad de Chirapaca. La Paz - Bolivia: Instituto de Investigaciones FÁrmaco Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés; Bolivia. Pag.75
- Crepon, K.; Marget, P.; Peyronnet, C.; Carrouee, B.; Arese, P.; Duc, G. 2010. Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. Field Crops Research; pag, 115,329-339.
- Espinal, C.; Huanca, M.; Terrazas, E.; Giménez, A. 2010. Evaluación de la actividad biocontroladora de *Trichoderma inhamatum* cepa BOL 12 QD, frente a *Botrytis fabae*, causante de la mancha chocolate en cultivos de haba (*Vicia faba* L.). BIOFARBO v.18 n.1 La Paz jun. 2010.
- Guadarrama, M. E.; López, M.; Laguna, A. 2006. Reducción del uso de fungicidas en el control de *Botrytis fabae* S. mediante genotipos tolerantes de haba (*Vicia Faba* L.) Facultad de ciencias agrícolas UAEM México. Pag.10
- Guerrero G.; Moreno D., Barrionuevo K. 2014. Control Biológico de Enfermedades de Plantas en América Latina y el Caribe. Control biológico de enfermedades de plantas en Perú. Pág. 327.
- Haggag, W.; Latif, A.; Faren, M. 2001. Interaction between vascular arbuscular mycorrhizae and antagonistic biocontrol micro-organisms on controlling root-rot disease incidence of Geranium plants. Journal of Biological Sciences 1(12): Pág.1147- 1153.
- Harman, G.E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. Plant Dis. 84: Pág. 377-393.
- Harman, G. E.; Howell, C. R.; Viterbo, A.; Chet, I.; Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Review Microbiology 2:43-56.
- Harman, G.E. 2006. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology. Pág. 190–194.
- Hernández-Lauzardo A.N.; Bautista-Baños S.; Velásquez-del Valle M.G. 2007. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. Rev Mex Fitopatol. 2007; 25: 66-74.
- Howell, C.R.; Stipanovic, R.D.1995. Mechanisms in the biocontrol of *Rhizoctonia solani* - induced cotton seedling diseases by *Gliocladium virens*: Antibiosis. Phytopathology 85: Pág. 469-472.
- Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease 87: Pág. 4-10.
- InfoStat (2002). InfoStat, versión 1.1. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas Argentina.
- Latorre, B.A.; Agosin, E.; San Martín, R.; Vasquez. G.S. 1997. Effectiveness of conidia of *Trichoderma harzianum* produced by liquid fermentation against *Botrytis* bunch rot table grape in Chile. Crop Protection. 1997; 16:209-14.
- Mejía, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Bael, S.V., Arnold, A.E., Hebbar, P., Samuels, G.J., Robbins, Herre, E.A., 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. Biological Control 46: Pág. 4–14.
- Mpika, J., Kébé, I.B., Issali, A.E., N'Guessan, F.K., Druzhinina, S., Komon-Zélazowska, M., Kubicek, C.P. and Aké, S. 2009. Antagonist potential of *Trichoderma* indigenous isolates for biological control of *Phytophthora palmivora* the causative agent of black pod disease on cocoa (*Theobroma cacao* L.) in Côte d'Ivoire. African Journal of Biotechnology Vol. 8 (20), Pág. 5280-5293.
- Tovar, J. C. 2008. Evaluación de la capacidad antagónica “in vivo” de aislamientos de *Trichoderma* spp. frente al hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. Tesis para optar el título de Microbiólogo agrícola y veterinario. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. D.C. Pag. 81
- Tronsmo A. and Raa J. 1997. Antagonistic actino of *Trichoderma pseudokoningii* against the apple pathogen *Botrytis cinerea*. Phytopathology. 1997; 77: 303.
- Zaldúa F. S. and Sanfuentes E. 2010. CONTROL DE *Botrytis cinerea* EN MINIESTACAS DE *Eucalyptus globulus* UTILIZANDO CEPAS DE *Clonostachys* Y *Trichoderma*. Chilean Journal of Agricultural Research 2010, 70 (4): 576–582.

Norma Condori Ticona, Betsabe Leon Ttacca, Juan G. Zapana Pari