

IDENTIFICACIÓN Y ANTIBIOSIS DE HONGOS FILAMENTOSOS ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE PAPAYO EN LA FINCA SAN ANDRÉS

Rosa Elena González Vázquez*, Amaurys Dávila Martínez, Maryluz Folgueras Montiel y Xiomara Rojas Moya.

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo, CP: 53 000, Villa Clara, Cuba.

*Autora para la correspondencia: virologia@inivit.cu.

RESUMEN

Uno de los factores que limitan la producción de papaya (*Carica papaya* L.) a nivel mundial es la muerte de las plántulas al ser transplantadas a campo. Esto ocurre fundamentalmente debido a la colonización de las raíces y parte del tallo por hongos habitantes del suelo que provocan la pudrición de estos órganos. El objetivo de este estudio fue identificar los hongos filamentosos asociados a la rizosfera de plántulas de papayo y determinar la actividad antagonista entre estos y una cepa de *Trichoderma* spp. Se analizaron muestras de suelo procedentes de la Finca San Andrés y se aislaron las colonias de hongos filamentosos, que fueron posteriormente identificados en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Se determinó la capacidad antagonista de la cepa de *Trichoderma* spp. frente a los hongos filamentosos identificados mediante el método de cultivo dual en placas de Petri. Se identificaron los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizopus* como posibles causantes de la muerte de las plántulas de papayo. La antibiosis de *Trichoderma* spp. frente a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Pythium* fue positiva, con un porcentaje de inhibición del crecimiento radial superior al 30 % a las 48 horas. Por otro lado, en igual período de tiempo el género *Rhizopus* ocupó la totalidad de la placa de Petri, siendo negativa la antibiosis de *Trichoderma* spp., lo que correspondió al grado cinco en la escala de capacidad antagonista.

Palabras clave: antibiosis, capacidad antagonista, *Carica papaya*, *Trichoderma* spp.

IDENTIFICATION AND ANTIBIOSIS OF FILAMENTARY FUNGI ASSOCIATED WITH PAPAYA RHIZOSPHERE IN SAN ANDRÉS FARM

ABSTRACT

One of the factors that limit papaya (*Carica papaya* L.) worldwide production is the seedlings death when transplanting them to the field. This happens because of the roots and part of the stem colonization mainly by soil fungi which causes these organs rot. The objective of this work was to identify the filamentous fungi associated with the rhizosphere of papaya seedlings and determine the antagonistic activity among these fungi and a *Trichoderma* spp strain. Soil samples from San Andrés farm were analyzed and filamentous fungi colonies were isolated, which were later identified at the Microbiology Laboratory of the Central University "Marta Abreu", from Las Villas. *Trichoderma* spp strain antagonistic capacity was determined in front of the filamentous fungi, identified through the dual cultivation method in Petri's plates. *Aspergillus*, *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizopus* genera were identified as possible causes of papaya

seedlings death. *Trichoderma* spp. antibiotic in front of *Aspergillus*, *Fusarium*, *Pythium* genera was positive with an inhibition percentage of the radial growth higher than 30 % at 48 hours. On the other hand, the *Rhizopus* genus occupied Petri's plate totality at the same period of time, being negative the *Trichoderma* spp. antibiotic, which belonged to the fifth grade in the antagonistic capacity scale.

Keywords: antibiosis, antagonistic capacity, *Carica papaya*, *Trichoderma* spp.

INTRODUCCIÓN

La papaya (*Carica papaya* L.) es originaria de la zona tropical de México y Centroamérica. El posee alto valor nutritivo y propiedades medicinales. Se consume principalmente como fruta fresca, además, se utiliza para preparar refrescos, jugos, encurtidos, mermelada, fruta en almíbar o cristalizada. De los frutos verdes y el tallo se extrae el látex, el cual contiene una enzima que favorece la digestión de las proteínas, por lo que se recomienda en la dieta de personas con trastornos gástricos (MINAG, 2018).

La papaya se cultiva de forma comercial no solo en las regiones de América, sino también en África y Asia. Los principales países productores a nivel mundial son Brasil, México, Nigeria, India e Indonesia, con más del 90 % de la producción total. En Cuba, la papaya constituye el tercer frutal en importancia económica, con una producción de 212 579 toneladas en el año 2016 (FAO, 2017).

Uno de los factores que limita la producción de este cultivo a nivel mundial es la pudrición y muerte de plántulas que se conoce con el nombre de *damping-off*. Esta enfermedad es causada por un grupo de hongos filamentosos que habitan en el suelo, entre los que se destacan miembros de los géneros: *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* y *Phytophthora*. Estos microorganismos invaden el sistema radicular de la planta, obstruyen los vasos vasculares y provocan amarillamiento de las hojas y estrías necróticas de color marrón en la base del tallo a nivel del suelo (Hernández, 2004). Este ahorcamiento trae como consecuencia la muerte de las plántulas generalmente en la etapa de vivero.

En la Finca San Andrés, municipio Santo Domingo, Villa Clara en el año 2016 se perdió el 58,4 % de las plantas llevadas a campo, con síntomas de amarillamiento, marchitez, pudrición de las raíces y el tallo, y muerte a los pocos días de trasplantadas.

Tomando en consideración la importancia que tiene la supervivencia de las plantas en campo y la influencia que sobre esto ejercen los hongos patógenos habitantes del suelo, el presente estudio tuvo como objetivos: identificar los principales hongos filamentosos asociados a la rizosfera de plántulas de papayo bajo las condiciones de la Finca San Andrés, y determinar la actividad antagónica entre estos y una cepa de *Trichoderma* spp. aislada de la misma muestra.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo durante los meses de octubre 2016 a febrero de 2017 en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Para desarrollar este análisis se utilizaron muestras de sustrato de un área de cultivo de la Finca San Andrés. El suelo de esta entidad está clasificado como Pardo mullido carbonatado (Hernández *et al.*, 2015), catalogado como *Phaeozems haplic calcaric* en correspondencia con la World Reference Base (WRB, 2014). El procesamiento y análisis de las muestras se

llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Dirección de Manejo de Plagas del INIVIT.

Toma de muestras

La toma de muestras se realizó en una plantación de papaya var. Maradol Roja con 25 días de plantada. Se seleccionaron 12 puntos, distribuidos al azar dentro del área donde se estaba manifestando el problema, en los cuales se colectó el suelo a una profundidad de 20 a 25 cm según Manual de Biología de Suelos Tropicales (Moreira *et al.*, 2012). Las muestras de suelo colectadas se homogenizaron hasta completar 500 g que se colocaron en una bolsa de plástico estéril. Para realizar el muestreo se utilizó un pico y una pala, que se desinfectaron con alcohol 70 % antes y después de tomar las muestras, la hojarasca se removió justo antes del muestreo. El suelo colectado tenía un 80 % de humedad.

Aislamiento e identificación de hongos filamentosos presentes en la muestra de suelo

Para realizar el aislamiento de los hongos presentes en la muestra de suelo se pesaron 100 g de suelo en una balanza analítica digital (Sartorius, Alemania) y se añadieron 50 ml de agua destilada estéril, completando hasta 150 ml. Se agitó la muestra con un agitador magnético durante 30 minutos y posteriormente se tomaron 3 ml de esta suspensión madre (10^0), se diluyeron en tubos de ensayo (15x150 mm) en 10^1 , 10^2 , 10^3 y 10^4 . De estas cinco diluciones se tomó una gota con una pipeta Pasteur estéril y se extendió con la ayuda de una espátula de Digrafsky sobre placas de Petri de 9 cm de diámetro que contenían medio de cultivo compuesto por PDA+ P (39 g Papa Dextrosa Agar, 1000 ml de Agua destilada y 400 mg Penicilina G (P)). Las placas de Petri sembradas se incubaron a 37 °C en oscuridad durante cinco días. El crecimiento de colonias de hongos filamentosos se evaluó cada 24 horas.

Posteriormente, se transfirieron hacia placas con medio de cultivo fresco, las colonias fúngicas que a simple vista mostraban características diferentes. Este procedimiento se repitió hasta obtener un cultivo puro. Luego se transfirieron a tubos de ensayo con medio PDA (39 g Papa Dextrosa Agar, 1000 ml de Agua destilada) las colonias fúngicas crecidas, mediante el empleo de una aguja estéril, con el objetivo de establecer y mantener un cepario con todos los hongos filamentosos aislados para su posterior identificación.

Para identificar los hongos filamentosos aislados de las muestras de suelo, se envió una muestra de cada aislado puro del cepario al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas.

Para la identificación de los hongos filamentosos aislados se seleccionaron los caracteres morfológicos de fácil observación y que definen a los géneros y especies, tales como: morfología, color, hábito de crecimiento de la colonia, tamaño (largo y ancho), forma y número de septos de los conidios. Además, se utilizaron claves y manuales especializados para cada género fúngico (Herrera y Mayea, 1994 y Castañeda, 2001).

Antibiosis *in vitro* entre el antagonista *Trichoderma* spp. y los hongos filamentosos aislados

Una vez identificados los aislados fúngicos se realizó una prueba de antibiosis. Se enfrentó la cepa de *Trichoderma* spp. detectada en la muestra de suelo analizada con el resto de los hongos filamentosos. Para evaluar la competencia por el sustrato se utilizó el

método de cultivo dual en placas de Petri (9 cm de diámetro) con medio de cultivo Agar Dextrosa de Sabouraud (65 g en un 1000 ml de Agua destilada) pH 5,6±0,2 con cuatro repeticiones por cada hongo patógeno por separado, siguiendo las indicaciones de Rincón *et al.* (1992). Por otro lado, se sembró en placas de Petri con el mismo medio de cultivo cada aislado fúngico para que sirviera de control experimental. Las mediciones del crecimiento radial de las colonias fúngicas se realizaron por la parte inferior de la placa de Petri con una regla graduada.

Se determinó el efecto de biocontrol del aislado de *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento micelial de los aislados fúngicos, mediante el cálculo del porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) a las 24, 48 y 72 horas, empleando la fórmula de Samaniego *et al.* (1989).

$$PICR = \frac{(R_1 - R_2)}{R_1} 100$$

Donde R₁ es el crecimiento radial del control y R₂ es el crecimiento radial del hongo patógeno en interacción con el hongo antagonista.

Se determinó la capacidad antagonica mediante la escala de cinco grados propuesta por Pérez *et al.* (2017) (Tabla 1).

Tabla 1. Escala para la determinación de la capacidad antagonica de los microorganismos.

Grado	Capacidad antagonica
1	El antagonista crece completamente sobre el patógeno y cubre totalmente la superficie del medio de cultivo.
2	El antagonista crece las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.
3	Antagonista y patógeno colonizan la mitad de la superficie del medio de cultivo y ninguno de los dos domina sobre otro.
4	El patógeno coloniza al menos las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.
5	El patógeno crece por encima del antagonista y ocupa casi toda la superficie del medio de cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación de hongos filamentosos presentes en la muestra de suelo

De la muestra de suelo analizada se obtuvieron siete aislados de hongos filamentosos, los cuales se seleccionaron por presentar diferencias en cuanto a las características morfológicas y la velocidad del crecimiento de las colonias fúngicas.

Luego de la purificación de los aislados, la identificación de los mismos evidenció la existencia de siete especies de hongos filamentosos diferentes, los cuales se encuentran distribuidos en cinco géneros (Tabla 2). A excepción del género *Trichoderma*, los aislados obtenidos están informados como hongos patógenos en cultivos de interés agrícola (González *et al.*, 2014).

Dos de los géneros identificados coinciden con los señalados por Hernández (2004), quien plantea que entre los principales géneros responsables del *damping-off* en plántulas de papayo se encuentran *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* y *Phytophthora*.

Tabla 2. Hongos filamentosos identificados en la rizosfera de plantas de papayo en la Finca San Andrés

No.	Género	Especie
1	<i>Aspergillus</i>	<i>A. niger</i> van Thiegen
2	<i>Aspergillus</i>	<i>A. flavus</i> Link
3	<i>Fusarium</i>	<i>F. oxysporum</i> Schlecht
6	<i>Rhizopus</i>	<i>R. nigricans</i> Ehreb
7	<i>Pythium</i>	<i>Pythium</i> spp.
8	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i> spp.
9	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai

En el caso del género *Fusarium*, que se encuentra ampliamente distribuido, su marcada variabilidad le permite colonizar nichos con diferentes condiciones ecológicas (Hernández, 2004). Estudios recientes hacen referencia a la patogenicidad de especies de *Fusarium* causantes de pudrición en semillas y plántulas de papayo (Romero, 2013). Por otro lado, el género *Pythium* se considera la causa del ahogamiento de las plántulas, la pudrición de las semillas, la raíz y frutos carnosos, además de otros órganos de la planta que se encuentran en contacto directo con el suelo (Agrios, 2005). Este género se aisló asociado a los síntomas de enfermedad de raíz en huertos de manzano (Ruiz *et al.*, 2017).

Entre los aislados fúngicos obtenidos en este estudio se identificaron tres especies del género *Aspergillus*. No existen informes de ninguna especie de *Aspergillus* como agente causal de pudrición en plántulas de papaya, pero Romero (2013), aisló este género fúngico de la parte externa de las semillas en frutos maduros. Sin embargo, *Aspergillus* spp. se encuentra entre los hongos fitopatógenos que causan la pudrición radical de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) (Folgueras, 2010). Las especies de este género colonizan las raíces a través de lesiones, equimosis y aberturas naturales o inducidas por daños mecánicos con implementos de las labores agrícolas según Holiday (1980), por lo que se consideran patógeno secundario de las raíces.

Una especie del género *Rhizopus* estuvo presente en la muestra de suelo. Este género fue aislado por Romero (2013), del interior y el exterior de semillas de papaya y al igual que *Aspergillus* spp. de procesos de deterioro vascular de la yuca (Folgueras, 2010). Además, se considera uno de los más importantes hongos fitopatógenos habitantes del suelo (Hyde *et al.*, 2014). Los miembros de este género colonizan la superficie de los productos agrícolas en corto período de tiempo y provocan la enfermedad conocida como pudrición blanda, la cual ocasiona importantes pérdidas desde el punto de vista económico. Este proceso se desarrolla mediante la excreción de enzimas pépticas del hongo que degradan y disuelven las pectinas de la lámina media de las células vegetales (Velázquez *et al.*, 2008).

Por otro lado, *Trichoderma* spp. es un hongo que se utiliza ampliamente para el biocontrol exitoso de especies fúngicas habitantes del suelo, que constituyen patógenos en diferentes cultivos tropicales de interés económico (Martínez *et al.*, 2013).

En este caso, la cepa de *T. harzianum* aislada de la muestra de suelo, puede ser resultado del tratamiento realizado a las plántulas de papayo durante la etapa de vivero o de la aplicación que se realiza en el campo a este cultivo en el momento de la siembra (MINAG, 2018).

Antibiosis *in vitro* entre el antagonista *Trichoderma* spp. y los hongos filamentosos aislados

En las evaluaciones realizadas para determinar la capacidad antagónica de *T. harzianum* frente a los aislados de hongos filamentosos, se obtuvo que la cepa del hongo antagonista manifestó un porcentaje de inhibición del crecimiento radial superior al 30 % al ser enfrentado a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Pythium* a las 24 horas (Tabla 3).

En el caso de estos tres géneros el crecimiento de la colonia fúngica en las placas con cultivo dual fue ligeramente inferior que en las placas utilizadas como control, lo cual pudiera estar asociado a la expresión de algún mecanismo de inhibición del crecimiento del hongo antagonista. Hjelijord y Tronsmo (1998) citado por Infante *et al.* (2009), plantean que muchas cepas de *Trichoderma* spp. producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico, estas sustancias inhibidoras son consideradas antibióticos.

Tabla 3. Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente a hongos filamentosos aislados de la rizosfera de papayo en la Finca San Andrés.

Hongos filamentosos	24h			48h		
	PICR	CA	A	PICR	CA	A
<i>Aspergillus</i> spp.	32,0		+	37,0	2	+
<i>F. oxysporum</i>	48,0		+	62,0	2	+
<i>R. nigricans</i>	90,0	4	-	100,0	5	-
<i>Pythium</i> spp.	45,0		+	46,0	2	+

PICR: Porcentaje de inhibición del crecimiento radial

CA: Grado de capacidad antagónica

A: Antibiosis

El mayor porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *T. harzianum* a las 48 horas fue frente a *Fusarium oxysporum*, seguido de *Pythium* spp. y el menor porcentaje se observó en *Aspergillus* spp. (Figura 1). Lo que coincidió en estos tres géneros con el segundo grado de capacidad antagónica según la escala que se utilizó para realizar la evaluación.

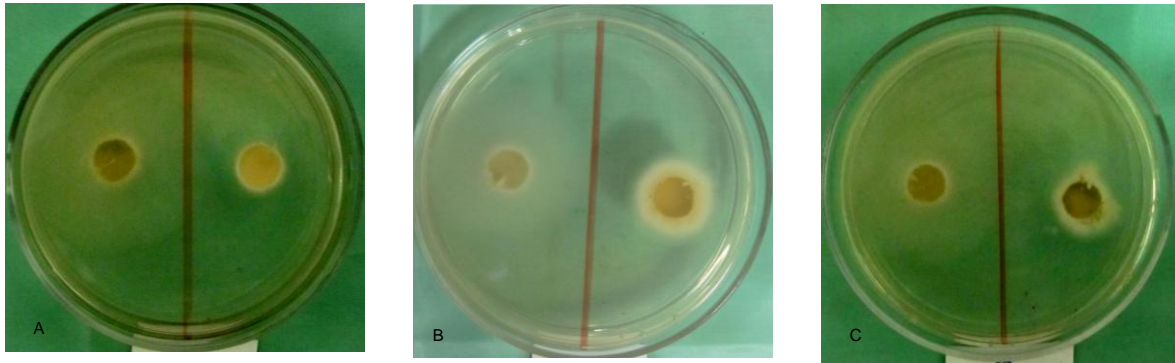


Figura 1. Crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* (A), *Pythium* spp. (B) y *Aspergillus* spp. (C) frente a *T. harzianum* a las 48 horas.

En el caso de *F. oxysporum* los resultados de este trabajo son similares a los obtenidos por González *et al.* (2005), quien determinó la efectividad antagónica de aislados de suelo de *Trichoderma* spp. frente a *F. oxysporum* causante de la muerte de plántulas de papaya en la etapa de vivero.

Chet (1987) y Bernal *et al.* (2001), afirman que la mayoría de las especies de *Trichoderma* tienen buen micoparasitismo, capaz de detectar a su hospedante a distancia y emitir enzimas y ramas de forma atípica hacia el hongo patógeno, además de competir eficientemente por espacio y los nutrientes. *Trichoderma* spp. puede parasitar, controlar y destruir muchos hongos, nemátodos y otros fitopatógenos, que atacan y destruyen muchos cultivos de interés agrícola, por lo que se ha convertido en indispensable en suelos y cultivos y de un incalculable valor para la agricultura (Foty, 2007).

T. harzianum no controló el aislado del género *R. nigricans*. En este caso, a las 24 horas, el microorganismo patógeno tenía más del 50 % del área de la placa de Petri ocupada. En la figura 2 se puede apreciar que el crecimiento radial de *R. nigricans* ocupa prácticamente la totalidad del área a las 48 horas, correspondiendo al grado cinco de capacidad antagónica y una antibiosis negativa por parte de la cepa de *T. harzianum*.



Figura 2. Crecimiento micelial de *Rhizopus nigricans* frente a la cepa de *T. harzianum* a las 48 horas.

No existen datos que validen el biocontrol del género *Rhizopus* con alguna cepa de *T. harzianum*. Una de las características distintivas del género *Rhizopus* es su rápida velocidad de crecimiento (Velázquez *et al.*, 2008), la cual le permite cubrir la superficie de la placa antes que el hongo antagonista. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos se puede presumir que, en condiciones de campo *R. nigricans* pudo haber atenuado el efecto antagónico de *T. harzianum* frente a los hongos fitopatógenos aislados, permitiendo de este modo condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad.

CONCLUSIONES

1. Se identificaron los hongos filamentosos pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Rhizopus*, *Pythium*, *Aspergillus* y *Trichoderma* presentes en la rizosfera de plántulas de papayo en la Finca San Andrés.
2. Se determinó que la cepa de *T. harzianum* aislada de la muestra de suelo de la Finca San Andrés, tuvo efecto antagónico frente a las especies de *F. oxysporum*, *Pythium* spp. y *Aspergillus* spp., sin embargo, no inhibió el crecimiento de *R. nigricans*.

BIBLIOGRAFÍA

- AGRIOS, G.N. 2005. Plant Pathology. 5^{ta} edición. Editorial Academic Press. México. 922 p.
- BERNAL, A.; C.M. ANDREU; M.M. MOYA; M. GONZÁLEZ y O. FERNÁNDEZ. 2001. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense* (E. F. Smith) Sndy. & Hans. *Centro Agrícola*, 28(2):30-32.
- CASTAÑEDA, R.F. 2001. Identificación de hifomicetes causantes de enfermedades en hortalizas comunes en Cuba. Tesis presentada en opción del grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INIFAT. Ciudad de La Habana. Cuba.
- CHET, I. 1987. *Trichoderma*, application, mode of action and potential as biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. In: CHET, I. Innovative approaches to plant disease control, John Wiley of Sons. 136-160 p.
- FAO. 2017. FAOSTAT. FAO Statistics Division. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/526/default.aspx>.
- FOLGUERAS, M. 2010. Las pudriciones radicales de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) en Cuba: etiología, epifitiología y manejo. Tesis presentada para aspirar al grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. 151 pp.
- FOTY, M. 2007. Todo sobre *Trichoderma*. [Archivo]. Foro de InfoJardín, 24 de mayo de 2007, Ciudad México, 12 p.
- GONZÁLEZ, J.C.; J.M. MARURI y A. GONZÁLEZ. 2005. Evaluación de diferentes concentraciones de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium oxysporum* agente causal de la pudrición de plántulas en papaya (*Carica papaya* L.) en Tuxpan, Veracruz, México. *UDO Agrícola* 5(1):45-47.
- GONZÁLEZ, I.J.; R. GÓMEZ; F.P. LANG; A. ÁLVAREZ y G. BALDERAS. 2014. Hongos fitopatógenos en suelos de la costa de Nayarit. INIFAP, CIRPAC. Campo Experimental Santiago Ixcuintla. Folleto Técnico Núm. 28, Santiago Ixcuintla, Nayarit, México. 55 p.

- HERNÁNDEZ, L.G. 2004. Rizobacterias y hongos micorrízicos como agentes de control biológico del *Damping-off* en plántulas de *Carica Papaya* L. Tesis presentada en opción del título de Maestro en Ciencias, área Biotecnología. Universidad de Colima, México. 112 p.
- HERNÁNDEZ, A.; J.M. PÉREZ; D. BOSCH y N. CASTRO. 2015. Clasificación de los suelos de Cuba 2015. Ediciones INCA, Cuba, 93 p.
- HERRERA, L. y S. MAYEA. 1994. Fitopatología General. La Habana: Editorial Félix Varela, 343 pp.
- HJELJORD, L. y A. TRONSMO. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman GE, Kubice CP. (Eds). 131-151 p.
- HOLIDAY, P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Cambridge University Press. 607 pp.
- HYDE K.D.; R.H. NILSSON; S.A. ALIAS; H.A. ARIYAWANSA and J.E. BLAIR. 2014. One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera. *Fungal Diversity*, 67:21-125.
- INFANTE, D.; B. MARTÍNEZ; N. GONZÁLEZ y Y. REYES. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Rev. Protección Veg.* 24 (1): 14-21 p.
- MARTÍNEZ B.; D. INFANTE y Y. REYES. 2013. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Rev. Protección Veg.* 28(1).
- MINAG. 2018. Instructivo técnico del cultivo de Fruta bomba. La Habana, Cuba. 1-3 pp.
- MOREIRA, F.; E. J. HUISING y D. E. BIGNELL. 2012. Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo. Instituto Nacional de Ecología, México, 337 pp.
- PÉREZ, E.J.; A. BERNAL; P. MILANÉS; M. LEIVA; Y. SIERRA y R. CUPUL. 2017. Actividad antagonista de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre el agente causal del tizón del arroz (*Pyricularia grisea* Sacc.). *Revista Centro Agrícola*, 44(3):13-19.
- RINCÓN, A. A.; J. LEGUIZAMON y G. ARBOLAEZ. 1992. Control biológico de *Rhizoctonia solani* con *Trichoderma* spp. en semilleros de café. *Cenicafe*, 43:73-83.
- ROMERO, J.A.; J.A. RANGEL; M. ROJAS; R. RODRÍGUEZ y L. ROBLES. 2013. Identificación y patogenicidad de hongos en semilla de papaya (*Carica papaya* L.). *Ciencia y Tecnol. Agrop. México*, 1(2):12-19.
- RUIZ M.F.; C. RIOS; D.I. BERLANGA; J.J. ORNELAS; C.H. ACOSTA; A. ROMO; P.B. ZAMUDIO; D.A. PÉREZ; M.A. SALAS; J.E. IBARRA y S.P. FERNÁNDEZ. 2017. Incidencia y agentes causales de enfermedades de raíz y sus antagonistas en manzanos de Chihuahua, México. *Rev. mex. fitopatol.*, 35(3).
- SAMANIEGO, J.; A. ULLOA y T. HERRERA. 1989. Hongos del suelo antagonistas de *Phymatorichum omnivorum*. *Fitopatología Mexicana*, 7(1): 86-95.
- VELÁZQUEZ, M.G.; S. BAUTISTA; A.N. HERNÁNDEZ; M.G. GUERRA y E. AMORA. 2008. Estrategias de Control de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, Agente Causal de Pudriciones Postcosecha en Productos Agrícolas. *Rev. mex. fitopatol*, 26(1):49-55.
- WRB (World reference base for soil resources). 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Reports no. 106. FAO, Roma, Italia. 81 p.