



Biocontrol de la roya amarilla del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) con cepas de *Trichoderma* sp. endófito

Biocontrol of coffee yellow rust (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) with *Trichoderma* sp. endophyte strains

^{ID} Giovana Mamani-Huayhua¹, ^{ID} Betsabe Leon-Ttacca^{2*},
^{ID} Luis Alfredo Palao-Iturregui¹, ^{ID} Yuri Rodrigo Borja-Loza³

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional del Altiplano, av. Floral 1153, Puno-Perú, 21001, Puno, Perú.

²Escuela Profesional de Agronomía, Universidad Nacional de Cañete, Lima, Perú.

³Escuela de Postgrado, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.

RESUMEN: La Roya amarilla, causada por el hongo *Hemileia vastatrix* Berk. & Br., es una de las principales enfermedades que limita la producción comercial y reduce significativamente los rendimientos del cafeto (*Coffea arabica* L.); los fungicidas son comúnmente empleados para controlarla, pero la utilización de microorganismos endófitos como el hongo *Trichoderma* es una alternativa prometedora. Por ello, la capacidad de biocontrol de cinco cepas de *Trichoderma* sp. endófito (TE1, TE2, TE3, TE4, TE5) en la roya amarilla y su efecto en el crecimiento de plántulas de café fue determinada a nivel de vivero. Las suspensiones de conidias (1×10^7 ufc mL⁻¹) de las cepas fueron rociadas al suelo y follaje. Se evaluó la altura de planta (AP); el diámetro de tallo (DT); la longitud de raíz principal (LRP); el número de hojas (NH); la incidencia y severidad de la enfermedad y el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC). El tratamiento TE-1 fue el más eficiente en reducir la incidencia (35,8 %) y la severidad (8,95 %) de la enfermedad, también mejoró los parámetros de crecimiento de las plantas en AP (12,70 cm), DT (2,5 mm), NH (7,6 unidades), LRP (11,38 cm), así como el AUDPC (56,625 unidades), en comparación con el testigo con valores de 96,67 %, 39,50 %, 10,02 cm, 1,96 mm, 5,06 cm, 4 unidades y 365,00 unidades en las variables evaluadas, respectivamente. Esta cepa podría ser utilizada para mejorar el desarrollo de las plantas y proteger contra la roya amarilla del cafeto.

Palabras clave: control biológico, café, hongos, antagonismo, pucciniales.

ABSTRACT: Yellow rust, caused by the fungus *Hemileia vastatrix* Berk. & Br., is one of the main diseases that limits commercial production and significantly reduces yields of coffee (*Coffea arabica* L.); fungicides are commonly used to control it, but the use of endophytic microorganisms such as the fungus *Trichoderma* is a promising alternative. Therefore, the biocontrol capacity of five endophytic *Trichoderma* sp. strains (TE1, TE2, TE3, TE4, TE5) on yellow rust and their effect on coffee seedling growth was determined at the nursery level. Conidial suspensions (1×10^7 cfu mL⁻¹) of strains were sprayed on soil and foliage. Plant height (PH); stem diameter (SD); length of main root (LMR); number of leaves (NL); disease incidence and severity; and area under the disease progress curve (AUDPC) were evaluated. The TE-1 treatment was the most efficient in reducing disease incidence (35.8 %) and severity (8.95 %). It also improved plant growth parameters in PH (12.70 cm), SD (2.5 mm), NL (7.6 units), LMR (11.38 cm), as well as AUDPC (56.625 units), compared to the control with values of 96.67, 39.50 %, 10.02 cm, 1.96 mm, 5.06 cm, 4 units and 365.00 units in the evaluated variables, respectively. This strain could be used to improve plant development and protect against coffee yellow rust.

Key words: biological control, coffee, fungi, antagonism, pucciniales.

*Autor para correspondencia: bleon@undc.edu.pe

Recibido: 16/05/2020

Aceptado: 10/06/2021

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0).
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica* L.) es el principal producto agrícola de exportación del Perú, con gran importancia económica y social que genera fuentes de ingresos para los productores del distrito de San Juan del Oro, provincia de Sandía y Región Puno, con condiciones climáticas que favorecen la producción orgánica cafetalera. El 2014 fue el año más crítico para la producción nacional, debido a que a finales del 2012 la enfermedad de la “roya amarilla” afectó las hojas del cafeto causando defoliaciones severas y sumado a la falta de renovación de los antiguos cafetales, trajo como consecuencia el declive de la producción nacional con una producción de 209 182 toneladas (1). A nivel mundial, esta enfermedad es el principal problema patológico en el cultivo del café, puede causar pérdidas de rendimiento de hasta el 35 % y tener un impacto epidemiológico policíclico en los años posteriores (2). Se han planteado dos enfoques para evitar las pérdidas ocasionadas por la enfermedad, la primera consiste en el uso de fungicidas, que es una alternativa muy costosa y potencialmente perjudicial para el ambiente y, la segunda, a través del desarrollo de variedades mejoradas que requiere del conocimiento de las fuentes de resistencia y de la diversidad del patógeno (3); sin embargo, puede que la solución se haya estado gestando por siglos de forma natural, a partir de las interacciones entre organismos, tal es el caso de los hongos endófitos que viven dentro de los tejidos de las plantas vivas sin causar síntomas de enfermedad, brindando beneficios ecológicos a su hospedante y diversos mecanismos antagónicos contra plagas, convirtiéndose en una alternativa para el control biológico de enfermedades (4,5).

Asimismo, estos hongos endófitos antagónicos influyen en el crecimiento de la planta, generando resistencia a estrés biótico y abiótico, reflejando en la planta vigor y con protección potencial frente al ataque de los patógenos; siendo el género *Trichoderma* uno de los endófitos ampliamente estudiado en el control biológico (6-8). Estos hongos producen metabolitos secundarios y algunos compuestos antifúngicos y antibacterianos que inhiben el crecimiento de otros microorganismos, incluyendo patógenos de planta, en vista de que producen y liberan enzimas líticas que pueden hidrolizar una amplia variedad de compuestos polímeros de la pared celular del patógeno como la quitina, proteína, celulosa y hemicelulosa (5,9). Además, el uso de *Trichoderma* en el control de enfermedades de las plantas aumenta la producción de los cultivos en beneficio de la agricultura sostenible (10).

Esta situación condujo a la realización del presente trabajo de investigación, con el objetivo de determinar la capacidad de biocontrol de cepas de *Trichoderma* endófito, hacia la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) y su efecto en el crecimiento de posturas de café (*Coffea arabica* L.).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El experimento se realizó en el laboratorio de fitopatología de la Universidad Nacional del Altiplano Puno (UNAP) y en un vivero ubicado en el distrito de San Juan del Oro, provincia de Sandía, Región Puno- Perú a una altitud de 1,298 m, 14° 14' 03" S y 69° 9' 29" W.

Producción de posturas de café (*Coffea arabica* L.)

Previamente se realizó la germinación de semillas de café, variedad caturra, en camas de almácigo con arena fina solarizada, a los 80 días se realizó el trasplante en bolsas de polietileno de 2 L, con sustrato solarizado (suelo agrícola y ceniza), se realizó el riego a capacidad de campo durante cuatro meses.

Procedencia y multiplicación de cepas de *Trichoderma*

Cinco cepas de hongos endófito del género *Trichoderma* sp. fueron proporcionadas por el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, estas fueron aisladas de hojas (cepas TE1 y TE2) y tallos (cepas TE3, TE4 y TE5) de plantas de café var. Catimor del distrito de San Juan del Oro en medio Papa dextrosa Agar y conservadas en solución glicerina al 20 % a -5 °C. Para la multiplicación se reactivaron las cepas en placas Petri con medio PDA, media placa con el hongo fue depositada a bolsas polipropileno con sustrato sólido, esterilizado a base de cebada precocida, se incubaron a 25 °C y se removieron por 15 días hasta su secado, estas fueron cosechadas y conservadas en bolsas selladas de polipropileno a 5°C (11,12).

Aplicación de *Trichoderma*

Previamente se realizó el conteo de esporas del sustrato cebada mediante diluciones seriadas, luego se obtuvo una suspensión de esporas de 1×10^7 ufc mL⁻¹ en agua destilada estéril. Se realizaron tres aplicaciones al sustrato y una dirigida al follaje en posturas de café. La primera aplicación fue al momento del trasplante de las plántulas, luego la segunda y tercera aplicación cada treinta días rociadas al sustrato con 200 mL de la suspensión (8). A los 30 días después de la tercera aplicación, se evaluaron los parámetros de crecimiento en plantas con tres meses de edad después del trasplante, posteriormente se realizó una cuarta aplicación por aspersión vía foliar.

Inoculación de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br.

Para el inóculo, se colectaron hojas con presencia de pustulas de roya amarilla, de campos de cultivo de café variedad Caturra, se obtuvo trozos de hojas (0,5 cm²) con signos de la enfermedad, estos fueron sumergidos en agua destilada estéril con tween 80 para desprender las

uredosporas del tejido y se estandarizó a una concentración de 2×10^4 uredosporas mL^{-1} (13,14). La inoculación se realizó por aspersión dirigida al follaje de posturas de café de 94 días de edad, después del trasplante (ddt). Luego de 24 horas se aplicaron las cepas de *Trichoderma* sp. endófito a una concentración de 1×10^7 ufc mL^{-1} .

Evaluaciones de parámetros

A los tres meses de edad después del repique se evaluaron cinco plantas por cada tratamiento; para la altura de planta (cm) se tomó medidas desde el cuello de la planta hasta el ápice del tallo; para el diámetro de tallo (mm) a la altura de 3 cm del suelo; para la longitud de la raíz principal (cm) desde el cuello de la planta hasta la cofia de la raíz principal y para el número de hojas (unidad) se realizó el conteo del total de hojas por cada planta.

Después de 23 días de la inoculación del patógeno, se realizaron cinco evaluaciones cada cinco días. Para la incidencia, se evaluó el número de hojas con presencia de la enfermedad y el número de hojas observadas por postura de cafeto. Para la severidad, se evaluaron dos hojas por planta con ayuda de una escala (15), con estas evaluaciones se determinó el AUDPC (área bajo la curva del progreso de la enfermedad).

Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de las cepas de *Trichoderma* sp. endófito sobre el crecimiento de posturas de café y la capacidad de biocontrol hacia la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.), se empleó un Diseño Completamente al Azar, con cinco cepas de *Trichoderma* y dos testigos (enfermo y sano) haciendo un total de siete tratamientos con cinco repeticiones, los datos expresados en porcentaje fueron transformados a log, con cuya transformación se confirmó la normalidad y la homogeneidad de varianzas, luego se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de contraste de Duncan, con un nivel de confianza del 95 % y un margen de error del 5 %, con el uso de un *software* estadístico InfoStat, versión 2008.

RESULTADOS

Efecto de cepas nativas de *Trichoderma* sp. endófito en el crecimiento de posturas de café (*Coffea arabica* L.)

A las nueve semanas después del trasplante de las posturas de café, aumentaron significativamente la altura de la planta y la raíz principal, en presencia de todas las cepas de *Trichoderma* endófito, en comparación con el testigo (sin aplicación de *Trichoderma*). No obstante, en el diámetro de tallo, el tratamiento TE3 no mostró diferencia significativa, en relación con el testigo sin aplicación, así como en los tratamientos TE4 y TE5 en número de hojas. Es necesario recalcar que en estos tratamientos se emplearon cepas provenientes de tallos de café. Sin embargo, los tratamientos TE1 y TE2 son cepas de hojas de café que aumentaron significativamente la altura de planta, raíz principal y número de hojas. Mientras tanto, en el diámetro de tallo, el tratamiento TE1 fue el de mejor efecto, seguido de TE5, TE2 y TE4 sin diferencia significativa, con respecto al testigo (Tabla 1). El tratamiento aplicado con la cepa TE1 fue el que presentó un mayor incremento en altura de la planta, el diámetro de tallo, la raíz principal y en el número de hojas con 21,10 %, 21,60 %, 55,54 % y 47,34 %, respectivamente, en comparación con el testigo.

Capacidad de biocontrol de *Trichoderma* sp. hacia la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.)

En las cinco evaluaciones de incidencia de la roya amarilla en posturas de café, a nivel de vivero existieron diferencias significativas entre los tratamientos ($p \leq 0,05$). A los 117 días después del trasplante (ddt) se observaron los síntomas de la enfermedad, como las manchas cloróticas en el haz de las hojas sin presencia de pústulas. En esta primera evaluación el testigo enfermo presentó una alta incidencia, seguido de los tratamientos con aplicaciones de *Trichoderma* TE3, TE4 y TE5; sin embargo, en los tratamientos TE1 y TE2 presentaron baja incidencia.

Tabla 1. Crecimiento de posturas de café (*Coffea arabica* L.) tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. endófito, bajo condiciones de vivero en el distrito de San Juan del Oro.

Tratamientos (Cepas)	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Raíz principal (cm)	Hoja (unidad)
TE1	12,70 a	2,50 a	11,38 a	7,60 a
TE2	12,10 ab	2,27 b	9,50 b	7,20 ab
TE3	10,94 c	2,12 bc	6,58 c	4,80 bc
TE4	11,42 bc	2,16 b	6,48 d	5,20 cd
TE5	11,64 b	2,25 b	8,10 d	6,00 cd
Testigo	10,02 d	1,96 c	5,06 e	4,00 d
CV	5,35 %	6,028 %	8,23 %	10,64 %
R2	0,710	0,651	0,929	0,652

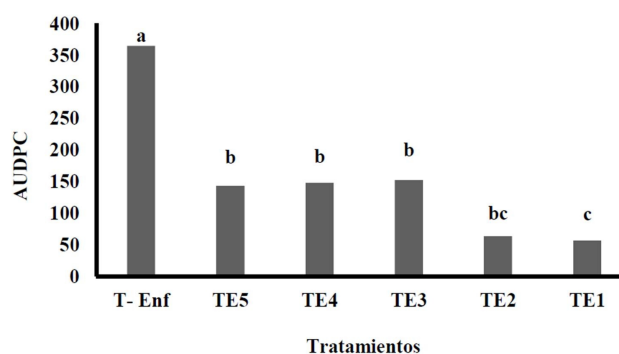
Según la prueba de Duncan, las medias con letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones. Testigo: sin aplicación de *Trichoderma*

En la segunda, tercera y cuarta evaluación de incidencia, los tratamientos TE3, TE4 y TE5 no presentaron diferencias significativas con el testigo enfermo; no obstante, en la quinta evaluación los tratamientos TE4 y TE5 sí mostraron diferencias significativas con el testigo enfermo. Por lo tanto, para todas las evaluaciones el TE1 y TE2 resultaron ser los mejores biocontroladores por presentar menor porcentaje de incidencia a diferencia de los tratamientos TE3, TE4, TE5 que no fueron eficientes en reducir la enfermedad (Tabla 2).

Con respecto a la severidad (%), en las cinco evaluaciones todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* sp. redujeron la enfermedad significativamente con respecto al testigo enfermo (T-enf) que fue el más afectado. Las posturas de café tratadas con los tratamientos TE1 y TE2 fueron los menos afectados por la enfermedad con valores menores de severidad de 10,30 % hasta la 5ta evaluación (Tabla 3). De igual modo, estos tratamientos fueron los que presentaron valores menores de AUDPC de 56,63 y 63,38, respectivamente, con respecto a los demás tratamientos y testigo enfermo con 365 unidades (Figura 1).

DISCUSIÓN

En la investigación se tuvo un efecto positivo en el crecimiento de las posturas de café (*Coffea arabica* L.) a nivel de vivero con la aplicación de cepas endófitas de *Trichoderma* sp. procedentes de hojas y tallos de plantas de cafeto. Resultados similares fueron reportados por otros autores, que señalan el incremento en el tamaño de la planta y el número de hojas en plántulas de café a nivel de vivero,



Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Figura 1. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br) de posturas de café tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. bajo condiciones de vivero en San Juan del Oro.

con aplicaciones de *Trichoderma* sp. endófito procedentes de plantas de café variedad Catimor (16). Por otra parte, con las aplicaciones de *T. harzianum* en posturas de café, se obtuvo mayor longitud radicular, altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas (17,18). De igual modo en otros cultivos como el cacao, se promovió el crecimiento de plantas a nivel de macetas, se aumentó significativamente el número de hojas, la altura de la planta, los brotes y la materia seca de las raíces (19), se mejoró el rendimiento en el cultivo de quina y vid (20,21) e incrementó el número de hojas en arroz (12). Posiblemente se debe a la capacidad que tienen estas cepas de *Trichoderma* en acidificar la rizosfera,

Tabla 2. Incidencia de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) en posturas de café tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. endófito bajo condiciones de vivero en el distrito San Juan del Oro.

Tratamientos	Evaluaciones de incidencia (%)				
	1 ^{ra} (117 ddt)	2 ^{da} (122 ddt)	3 ^{ra} (127 ddt)	4 ^{ta} (132 ddt)	5 ^{ta} (137 ddt)
TE1	3,33 b	5 bc	17,5 c	24,99 b	35,8 c
TE2	3,33 bc	10 b	22,5 bc	27,50 b	42,5 c
TE3	10 b	28,33 a	40,83 a	61,67 a	73,33 ab
TE4	12,5 b	31,67 a	43,33 a	56,67 a	70,00 b
TE5	11,67 b	26,67 a	35,83 ab	53,33 a	64,17 b
T-enf.	36,67 a	50 a	65,00 a	86,66 a	96,67 a
T-sano	0 c	0 c	0 d	0 c	0 d

Según la prueba de Duncan, las medias con letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones.

T-enf: testigo enfermo (con inoculación del patógeno). T-sano: testigo sano (sin inoculación del patógeno). ddt: días después del trasplante

Tabla 3. Porcentaje de severidad (%) de la roya amarilla (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) de posturas de café tratadas con cepas de *Trichoderma* sp. bajo condiciones de vivero.

Tratamientos	Número de evaluaciones de severidad ddt				
	1 ^{ra} (117 ddt)	2 ^{da} (122 ddt)	3 ^{ra} (127 ddt)	4 ^{ta} (132 ddt)	5 ^{ta} (137 ddt)
TE1	0,3 cd	1,2 c	1,2 c	4,1 d	8,95 c
TE2	0,3 cd	1,2 c	1,5 c	4,7 cd	10,3 c
TE3	1,5 bc	2,1 b	4,7 b	11,25 bc	23,3 b
TE4	1,2 bc	2,7 b	5 b	10,25 bc	22 b
TE5	1,2 bc	2,7 b	6 b	12,25 b	14,3 bc
T-enf.	3 a	10 a	15,3 a	26,5 a	39,5 a
T-sano	0 d	0 d	0 c	0 e	0 d

Según la prueba de Duncan, las medias con letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$). Datos promedio de severidad de cinco plantas por tratamiento. T-enf: testigo enfermo (con inoculación del patógeno). T-sano: testigo sano (sin inoculación del patógeno). ddt: días después del trasplante

liberando ácidos orgánicos y metabolitos quelantes que secuestran cationes y actividad redox; estos mecanismos vuelven solubles a los minerales (22). Por otra parte, se conoce que especies de *Trichoderma* son potenciales colonizadores de raíces, producen auxinas, citoquininas y etileno que están involucradas en el crecimiento y en la protección de las plantas frente al ataque de los patógenos (23,24), e inducen resistencia a las enfermedades en una variedad de especies de plantas (6).

Asimismo, las cepas nativas de *Trichoderma* sp. endófito empleadas en esta investigación tuvieron la capacidad de controlar al patógeno *H. vastatrix*, reduciendo la incidencia, severidad y AUDPC de la enfermedad en posturas de café, ya que fueron tratadas de forma preventiva con las cepas a nivel del sistema radicular y posterior a la inoculación del patógeno al follaje. Por otra parte, las cepas provenientes de hojas fueron los que mejor efecto presentaron en reducir la enfermedad, debido a que estos endófitos pueden producir un compuesto antifúngico o una sustancia que pueden inducir los mecanismos de defensa de la planta frente al patógeno (6). De igual modo, provocar resistencia sistémica inducida por vías dependientes de ácido jasmónico/etileno y desencadenar respuestas de defensa en la planta a consecuencia del establecimiento de algunas cepas de *Trichoderma* en la rizosfera de la planta (25).

Otros mecanismos empleados por *Trichoderma* son la competencia física por espacio y nutrientes; producción de metabolitos secundarios con actividad antibiótica o antifúngica; micoparasitismo secretando enzimas hidrolíticas como quitinasas y glucanasas que degradan la pared celular de los hongos fitopatógenos (26-28). Lo que concuerda con lo reportado por otros autores, quienes confirman antagonismo de cepas de *Trichoderma* sobre *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. como resultado de la colonización de *Trichoderma* sobre el patógeno y por competencia por espacio y nutrientes sobre las hojas de café con síntomas de la enfermedad (29); asimismo, estos antagonistas inducen resistencia en la planta a las infecciones por el patógeno (6). Igualmente, afirman micoparasitismo de cepas de *Trichoderma* sobre *Phytophthora megakarya*, donde estos antagonistas redujeron significativamente los efectos del patógeno en las hojas de las plantas (9). A su vez, en estudios preliminares, señalan que cepas de *Trichoderma* endófitos que fueron aisladas de flores de *Coffea* en África, inhiben la germinación de uredosporas de *H. vastatrix* y reducen la severidad de la enfermedad y es considerada como un potencial controlador biológico para el desarrollo de biofungicidas, debido a que *Trichoderma* sp. Posee distintas características como proteger a las plantas contra patógenos radiculares (30). Por todos los mecanismos de acción que posee las cepas de *Trichoderma* y además por ser endófito de café, se explican los resultados obtenidos en la investigación, acerca de que todas las cepas de *Trichoderma* endófito tuvieron efecto en el control de la roya amarilla en plantas de café de cuatro meses de edad.

CONCLUSIÓN

Se demostró que con aplicaciones de cepas de *Trichoderma* endófito al suelo y follaje en posturas de café, se reduce la incidencia y la severidad de la roya amarilla (*H. vastatrix*), y se mejoran los parámetros de crecimiento de las posturas a nivel de vivero; siendo la cepa TE1, proveniente de hojas de café, la de mejor respuesta en los parámetros de crecimiento (altura de planta, diámetro de tallo, longitud de raíz principal y número de hojas); asimismo con menor porcentaje de incidencia, severidad y AUDPC, en comparación con el testigo sin aplicación de *Trichoderma*.

BIBLIOGRAFÍA

1. MINAGRI. Síntesis agroeconómica del café [Internet]. Perú: Ministerio de Agricultura y Riego; 2015 Jun [cited 18/02/2021] p. 15. Report No.: 1. Available from: <https://biblioteca-virtual.midagri.gob.pe/index.php/analisis-economicos/estudios/2015-1/31-sintesis-agroeconomica-del-cafe/file>
2. Talhinas P, Batista D, Diniz I, Vieira A, Silva DN, Loureiro A, et al. The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix*: one and a half centuries around the tropics. *Molecular Plant Pathology*. 2017;18(8):1039-51. <https://doi.org/10.1111/mpp.12512>
3. Quispe-Apaza CS, Mansilla-Samaniego RC, López-Bonilla CF, Espejo-Joya R, Villanueva-Caceda J, Monzón C. Diversidad genética de *Hemileia vastatrix* de dos zonas productoras de café en el Perú. *Revista mexicana de fitopatología*. 2017;35:418-36. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1612-7>
4. Martínez NLM, Martínez IJE, Rodríguez EQ, Heil M. El papel de los volátiles en la delimitación del espacio de hongos endófitos de frijol Lima. *Jovenes en la Ciencia*. 2018;3(0):357-61.
5. Vásquez MV, Lozano RE, Martínez SP, Castillo DS del. Hongos endófitos foliares como candidatos a biocontroladores contra *Moniliophthora* spp. de *Theobroma cacao* (Malvaceae) en Ecuador. *Acta Biológica Colombiana*. 2018;23(3):235-41. <https://doi.org/10.15446/abc.v23n3.69455>
6. Bisen K, Keswani C, Patel J, Sarma B, Singh H. *Trichoderma* spp.: efficient inducers of systemic resistance in plants. In: *Microbial-mediated induced systemic resistance in plants* [Internet]. Springer, Singapur; 2016. p. 185-95. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-0388-2_12
7. Contreras-Cornejo HA, Macías-Rodríguez L, del-Val E, Larsen J. The root endophytic fungus *Trichoderma atroviride* induces foliar herbivory resistance in maize plants. *Applied Soil Ecology*. 2018;124:45-53.
8. Leon-Ttacca B, Arévalo-Gardini E, Bouchon AS. Muerte repentina de *Theobroma cacao* L. causado por *Verticillium dahliae* Kleb. en el Perú y su biocontrol In vitro. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* [Internet]. 2019 [cited 30/04/2020];20(1). https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num1_art:1251

9. Saravanakumar K, Fan L, Fu K, Yu C, Wang M, Xia H, et al. Cellulase from *Trichoderma harzianum* interacts with roots and triggers induced systemic resistance to foliar disease in maize. Scientific reports. 2016;6:35543.
10. Al-Ani LKT. Trichoderma: beneficial role in sustainable agriculture by plant disease management. In: Plant Microbiome: Stress Response. Springer; 2018. p. 105-26.
11. Sandoval MC, Belesansky C. Producción artesanal del hongo antagonico Trichoderma Persoon en sustrato sólido. Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental. 2020;7(3):55-64.
12. Chávez Vergara JAA, Torres García CA, Espinoza Vera EA, Zambrano Pazmiño DE, Villafuerte Barreto AG, Zambrano Gavilanes FE, et al. Efectos de la cepa nativa de *Trichoderma* sp. y lixiviado de vermicompost bovino sobre el crecimiento foliar y contenido de clorofila en arroz (*Oryza sativa* L.) en fase de semillero. Revista Científica Ecuatoriana. 2020;7(2):23-31. <https://doi.org/10.36331/revista.v7i2.104>
13. García EG, Jiménez E, Castro O, Mora B. Variación en la composición química foliar de *Coffea* sp.(Rubiales: *Rubiaceae*) y su. relación con la resistencia a *Hemileia vastatrix* (Uredinales: *Pucciniaceae*). Revista de biología tropical. 1993;209-14.
14. Cruz IG-DL, Perez-Portilla E, Escamilla-Prado E, Martínez-Bolaños M, Carrión- Villarnovo GLL, Hernández-Leal TI. Selección in vitro de micoparásitos con potencial de control biológico sobre Roya del café (*Hemileia vastatrix*). Revista Mexicana de Fitopatología [Internet]. 2017;36(1). Available from: <https://www.smf.org.mx/rmf/ojs/index.php/RMF/article/view/93>
15. SENASA. Norma para la ejecución y remisión de información de actividades del programa manejo integrado de plagas del cafeto [Internet]. Lima, Perú; 2003. Available from: https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/jer/SUB_DIR_CONTEP/1222.pdf
16. Alarcon C, Shamir F. Identificación de hongos endófitos y su uso en la bioproteccion de plántulas de café para reducir el daño de *Colletotrichum coffeanum* en San Martin-Perú [Internet] [Pregrado - Agronomía]. [Tarapoto, Peru]: Universidad NAcional de San Martin; 2017. 58 p. Available from: <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/2418>
17. Guilcapi Pacheco ED. Efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, en la producción de plantas de café (*Coffea arabica*) variedad caturra a nivel de vivero [Internet] [Pregrado - Agronomía]. [Riobamba, Ecuador]: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2010. 95 p. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/334>
18. Borja Espinoza JM, Rivera Meza A. Influencia del hongo *Trichoderma harzianum* en la producción de plantas de café (*Coffea arabicavar. laurina* [Smeathman], caturra) [Internet] [Tesis de pregrado]. [La Merced- Perú]: Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión; 2018 [cited 17/03/2021]. Available from: <http://repositorio.undac.edu.pe/handle/undac/2103>
19. Tchameni SN, Ngonkeu M, Begoude B, Nana LW, Fokom R, Owona A, et al. Effect of *Trichoderma asperellum* and arbuscular mycorrhizal fungi on cacao growth and resistance against black pod disease. Crop protection. 2011;30(10):1321-7.
20. Leon Ttacca B, Ortiz Calcina N, Condori Ticona N, Chura Yupanqui E. Cepas de *Trichoderma* con capacidad endofítica sobre el control del mildiu (*Peronospora variabilis* Gäum.) y mejora del rendimiento de quinua. Revista de Investigaciones Altoandinas. 2018;20(1):19-30. <https://doi.org/10.18271/ria.2018.327>
21. Pascale A, Vinale F, Manganiello G, Nigro M, Lanzuise S, Ruocco M, et al. *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. Crop protection. 2017;92:176-81. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.010>
22. Altomare C, Norvell WA, Björkman T, Harman GE. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Applied and environmental microbiology. 1999;65(7):2926-33.
23. Castro A, Rivilla C. *Trichoderma* spp modos de acción eficacia y usos en el cultivo de café [Internet]. Caldas, Colombia; 2012. Available from: <https://biblioteca.ceni-cafe.org/handle/10778/577>
24. Acurio Váscone RD, España Imbaquingo CK. Aislamiento, caracterización y evaluación de *trichoderma* spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y Trébol blanco (*trifolium repens*). La Granja: Revista de ciencias de la vida. 2017;25(1):53-61. <https://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
25. Salas-Marina MA, Silva-Flores MA, Uresti-Rivera EE, Castro-Longoria E, Herrera- Estrella A, Casas-Flores S. Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. European Journal of Plant Pathology. 2011;131(1):15-26.
26. Bae SJ, Mohanta TK, Chung JY, Ryu M, Park G, Shim S, et al. Trichoderma metabolites as biological control agents against *Phytophthora pathogens*. Biological Control. 2016;92:128-38. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.10.005>
27. González BC, Arizmendi GD, Velasco RG. Trichoderma: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. Biotecnología Vegetal. 2019;19(4):237-48.
28. Singh A, Shukla N, Kabadwal B, Tewari A, Kumar J. Review on plant- *Trichoderma*-pathogen interaction. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2018;7(2):2382-97. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.291>
29. Rolz A, De León L, Paniagua O. Evidencia de un antagonismo in vitro de especies de *Trichoderma* contra *Hemileia vastatrix* (roya del café). Centro de Ingeniería Bioquímica, Instituto de Investigaciones. Universidad del Valle de Guatemala. Revista 25 de la Universidad del Valle de Guatemala. 2013;25:61-5.
30. Barreto RW, Agustín CAA, Herrera RM, Salcedo SS, Evans H. Controle biológico da ferrugem do cafeeiro com fungos micoparasitas e endofíticos. In: Viçosa UF de, editor. Viçosa, MG,Brasil.: Universidad Federal de Viçosa,; 2017. Available from: http://www.infobibos.com/anais/CBFito/50/Resumos/Resumo50CBFito_0011.pdf