

EVALUACIÓN DE *Trichoderma asperellum* COMO BIORREGULADOR DE *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*.

EVALUATION OF *Trichoderma asperellum* AS BIOREGULATOR OF *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*.

Liliana María Hoyos Carvajal¹; Sonia Jaramillo Villegas² y Sergio Orduz Peralta³

Resumen. La roña de la papa causada por *Spongospora subterranea*, una de las principales enfermedades de la papa, es un protozoo para el cual existen limitadas estrategias de control debido a que cuenta con diversos tipos de inóculo, estructuras de resistencia y hospederos alternos. El objetivo de este trabajo fue evaluar *Trichoderma asperellum* T-84 y T-109 sobre *S. subterranea* bajo condiciones de invernadero en dos experimentos, probando en plantas hasta la novena y doceava semana, variables de peso fresco, seco y número de nódulos producidos por el patógeno. Consistentemente, las plantas tratadas con *T. asperellum* aumentaron el peso fresco (Experimento 1) y peso seco (Experimento 2) y redujeron el número de nódulos de *S. subterranea* en raíces de papa, actuando mejor en aplicaciones solos que en mezcla. Este es un estudio preliminar que sugiere que *T. asperellum* puede llegar a ser a futuro un potencial agente de regulación biológica para la roña de la papa, pero que requiere estudios de la interacción papa/*S. subterranea*/*Trichoderma* para su implementación.

Palabras claves: Sarna polvosa, papa, biorregulación, *Trichoderma asperellum*, *Spongospora subterranea*

Abstract. Powdery scab caused by *Spongospora subterranea*, is one of the main diseases on potato crops, is a protozoo for which exist limited control strategies because it counts with diverse types of inoculum, resistance structures and alternative hosts. The objective of this work was to test *Trichoderma asperellum* T-84 and T-109 against *S. subterranea* under controlled conditions in two experiments, evaluating in plants until nine and twelve week, variables of fresh and dry weight and number of galls produced by the pathogen. Consistently the plants with *T. asperellum* increased fresh weight (Experiment 1) and dry weight (Experiment 2) and reduced the number of nodules of *S. subterranea* in potato root, better in single applications than in mixture. This is a preliminary study that suggests *T. asperellum* could be a potential agent of biological regulation in the future for powdery scab, but it will be require studies of the interaction potato plant/*S. subterranea*/*Trichoderma* for its implementation.

Key words: Powdery scab, potato, bioregulation, *Trichoderma asperellum*, *Spongospora subterranea*

La sarna polvosa de la papa *Spongospora subterranea* (Wallroth) Lagerheim f. sp. *subterranea* Tomphson, es un protozoo que actúa como parásito obligado en cultivos de papa, en los cuales se ha convertido en una de las principales enfermedades limitantes; en Colombia concretamente, se encuentra presente en la mayoría de las zonas paperas de los departamentos de Nariño, Cundinamarca, Antioquia y Boyacá. Este patógeno produce pústulas en el tubérculo que deterioran su calidad, y en raíces y estolones de la planta originan agallas en las cuales se encuentra abundante cantidad de quistosoros, limitando la capacidad de translocación de nutrientes y toma de agua. Los rendimientos de un cultivo pueden disminuir hasta un 80% si el patógeno aparece durante la primera etapa de desarrollo, desde siembra a floración, donde el principal órgano atacado es la raíz, si su

infección se realiza en la fase de tuberización (70-90 días), no se afectan los rendimientos sustancialmente ya que su efecto es básicamente en tubérculos, disminuyendo su calidad cosmética (Peña, 2000). Es de anotar que la severidad del ataque, no es homogéneo en los tejidos, particularmente en el sistema radical y depende de factores como el tipo de suelo, condiciones climáticas y clon de papa utilizado (Jaramillo y Botero, 2007). *S. subterranea* es agente transmisor del potato moptop virus PMTV, que causa necrosis y rajadura del tubérculo y se constituye en un agente predisponente para otras enfermedades en el cultivo tales como *Phytophthora infestans* y *Rhizoctonia solani* (Davis *et al.*, 2000).

En su ciclo de vida, este protozoo cuenta con diversos tipos de inóculo como plasmodios,

¹ Profesora Auxiliar. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Facultad de Agronomía. Carrera 45 No 26-85, Edificio 500. Bogotá, Colombia. <limhoyosca@unal.edu.co>

² Profesora Asociada. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias. A.A. 1779. Medellín, Colombia. <sjaramal@unalmed.edu.co>

³ Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias. A.A. 3840. Medellín, Colombia. <sordux@cib.org>

Recibido: Mayo 29 de 2008; Aceptado: Septiembre 10 de 2008.

Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín. 61(2): 4496-4502. 2008

zoosporas primarias y secundarias, estructuras de resistencia, como quistosoros, zoosporas y plasmodios enquistados (Hoyos *et al.*, 2008) y amplios hospederos alternos pertenecientes a diversas familias botánicas como Amarantáceas, Asteráceas, Brassicáceas, Chenopodiáceas, Cyperáceas, Fabáceas, Malváceas, Poáceas, Polygonáceas y Solanáceas que incluyen arvenses asociadas a cultivos y plantas de importancia agronómica (Qu y Christ, 2006); todas estas estrategias, facilitan su multiplicación y permanencia en suelos, y además se favorecen por las prácticas agrícolas de las zonas productoras en el país.

Por tanto, las medidas de control que se hacen ineficaces y el desconocimiento de aspectos biológicos y ecológicos de la enfermedad llevan a la búsqueda de alternativas de control o de manejo tales como sistemas de fertilización, búsqueda de variedades tolerantes y manejo de la microbiota del suelo. *Trichoderma* es el biocontrolador mas empleado en el mundo (Harman, 2006), trabajos en tomate, otro hospedero de este patógeno, realizados por Nielsen y Larsen (2004) con formulaciones de *T. harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Streptomyces* sugieren que los dos primeros microorganismos pueden tener potencial de control sobre *S. subterranea*, entendida como la reducción de nódulos en raíces de tomate, pero se desconocen otras referencias que hagan alusión al control de *Trichoderma* sobre *S. subterranea* teniendo la papa como hospedero. Estudios previos de *Trichoderma* sobre *Phytophthora infestans* en papa, patógeno cercano en términos taxonómicos a *S. subterranea* han demostrado su efectividad (Ghorbani *et al.*, 2005; Stephan *et al.*, 2005), concretamente, aislamientos nativos de suelos colombianos del hongo

bioregulador *T. asperellum* T-84 y T-109 han presentado actividad bajo evaluaciones en sistemas controlados (Hoyos *et al.*, 2001), por tanto se presenta el siguiente estudio como un experimento exploratorio en el manejo de la sarna polvosa, cuyo objetivo consistió en evaluar la actividad de regulación biológica de dos aislamientos de *T. asperellum* T-84 y T-109 procedentes de suelos colombianos sobre *S. subterranea* bajo condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamientos de *Trichoderma asperellum*. Se utilizaron dos aislamientos de *T. asperellum* T84 y T109 provenientes de la Colección de Microorganismos de la Unidad de Biotecnología y control biológico de la Corporación para Investigaciones Biológicas, seleccionados en estudios previos como eficientes biocontroladores en experimentos *in Vitro* en otros patógenos en papa (Hoyos *et al.*, 2001 y Restrepo *et al.*, 2001). Los aislamientos fueron subcultivados en Agar Papa Dextrosa (Difco) a 25 °C y multiplicados según se necesitara.

Ensayos de invernadero. Como fuente de inóculo de *S. subterranea*, para ambos ensayos fue empleado un mismo tipo de suelo procedente de cultivos con alta incidencia del patógeno del Centro Agropecuario Paysandú (Santa Elena, Medellín). El material vegetal se obtuvo de tubérculos de papa de la variedad Diacol Capiro por presentar alta susceptibilidad al patógeno (Jaramillo y Botero, 2007); estos fueron sembrados en 1 kg del suelo infestado y los tratamientos fueron incorporados como se indica en cada experimento (Tabla 1)

Tabla 1. Tratamientos de *Trichoderma asperellum* aplicados a la semilla de papa para bioregulación de *Spongopora subterranea*.

| Tratamiento | Dosis de inóculo de <i>Trichoderma</i> | |
|-----------------------------------|--|----------------------|
| | Experimento 1 (conidias/g suelo) | Experimento 2 (%) |
| Control | 0 | 0 |
| <i>T. asperellum</i> T 84 | 1x 10 ⁶ | 1 |
| <i>T. asperellum</i> T 109 | 1x 10 ⁶ | 1 |
| <i>T. asperellum</i> T 109 – T 84 | 1x 10 ⁶ | 1 |
| Tiabendazol | 4 cc/ L agua | 4 cc / L agua |

Experimento 1. Para este experimento se adicionaron soluciones acuosas de *T. asperellum* ajustadas a 1×10^6 ufc /g suelo (Tabla 1), una mezcla de ambos aislamientos en una proporción de $1 \times 10^3:1 \times 10^3$ ufc /g suelo fue aplicada. Como tratamiento convencional se utilizó Tiabendazol® aplicado al tubérculo por inmersión en solución al 0,4% durante 30 min., como control absoluto se emplearon tubérculos sin aplicaciones. Cada tratamiento consistió en 10 potes de plantas, las cuales fueron mantenidas en invernadero bajo condiciones óptimas para el cultivo (17 °C y 70-80% HR). En estas plantas se cuantificó la incidencia de *S. subterranea* en el periodo vegetativo a las 9 semanas, periodo en el cual se presentan síntomas visibles del ataque de *S. subterranea* contando número de nódulos totales en raíz y midiendo peso seco y fresco de la parte aérea y la raíz.

Experimento 2. Este se efectuó como prueba confirmatoria del primer experimento en diferente época. Se utilizaron semillas de papa variedad Diacol Capiro en potes de 1 kg de suelo de la misma fuente del experimento 1. Para este caso el inóculo de *T. asperellum* fue incorporado 7 días antes de la siembra en cascarilla de trigo (Tabla 1), a una concentración media de 1×10^4 ufc/g suelo en orden de favorecer el establecimiento de los aislamientos de *T. asperellum* en suelo, aportando una fuente de carbono aprovechable por el hongo como lo es la cascarilla de trigo. En este experimento se utilizaron los mismos testigos que en el Experimento 1 y se mantuvieron en condiciones similares. En este, la incidencia de *S. subterranea* fue analizada en el periodo de tuberización (12 semanas), con el fin de probar en una etapa fisiológica posterior a la evaluada en el primer experimento, muestreando parámetros similares a los registrados en el Experimento 1.

Los resultados de peso seco y fresco fueron analizados mediante análisis de varianza ANAVA y pruebas de diferencia de medias Tukey con el programa Statistica versión 5,1-1998 (Stat. Soft Inc.) y los datos de número de nódulos de *S. subterranea* en raíces se analizaron mediante un modelo lineal generalizado (glm).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables fisiológicas.

Experimento 1. Los análisis de tejidos realizados demostraron que hay diferencias estadísticas en peso fresco de la parte aérea y radical para el primer ensayo, pero no así cuando se analizó el peso seco. Los tratamientos con *T. asperellum* T84 y T109 presentaron diferencias significativas con respecto a ambos controles (absoluto y con fungicida), pero, como se realizaron análisis de peso seco estas diferencias no fueron evidentes.

Experimento 2. Se presentaron diferencias significativas en el peso seco de la parte aérea y radical entre los diferentes tratamientos (Tabla 2). Las raíces de las plantas inoculadas con *T. asperellum* sola o en mezcla, tuvieron incrementos en peso con respecto al control absoluto y el tratamiento convencional con fungicida, la ganancia en peso seco fue alrededor de 250% con respecto a plantas tratadas con fungicida y de un 36% con respecto al control absoluto; esta evaluación se realizó en la semana 12 después de la siembra en la etapa de prefloración del cultivo, donde se requiere una gran cantidad de nutrientes porque se están formando los tubérculos en las raíces, donde las plantas inoculadas con *T. asperellum* se puede favorecer potencialmente el proceso de tuberización, no obstante es necesario realizar ensayos de campo en rendimientos para corroborar tal hipótesis. Para la variable peso seco aéreo, los análisis estadísticos efectuados demostraron diferencias estadísticas significativas, la prueba de comparación de medias separó los tratamientos en dos grupos, uno conformado por el control absoluto y las plantas a las cuales se les aplicó fungicida (tratamiento convencional), otro conformado por los tratamientos donde se inoculó *T. asperellum*. El peso seco del follaje y en general estructuras aéreas se incrementó en un 92% con respecto a las plantas inoculadas con el tratamiento convencional y con respecto a las plantas del control absoluto aumentó en un 84,5%. Lo anterior puede deberse a que las raíces vigorosas permitieron una toma mas eficiente de nutrientes y su translocación a partes aéreas de la planta y estas pueden presentar mayor tolerancia a enfermedades foliares (resultado no mostrado). En este caso parece evidente un fenómeno de estimulación de crecimiento que se amplía mas adelante; no obstante, trabajos en otros modelos demuestran que

la estimulación de crecimiento es un fenómeno notorio sólo en determinadas etapas fenológicas de un cultivo y por tanto es necesario evaluar las variables involucradas en severidad o incidencia para

aclarar los mecanismos de acción de este hongo antagonista sobre un fitopatógeno (Hoitink *et al.*, 2006; Hoyos, 2007)

Tabla 2. Influencia de *Trichoderma asperellum* en el biocontrol de *Spongospora subterranea* en papa

| Tratamiento | Experimento 2* | |
|---------------------------------|--------------------|---------------------|
| | Peso seco raíz (g) | Peso seco aéreo (g) |
| Control absoluto | 1,062 b | 0,643 a |
| <i>T. asperellum</i> T 84 | 1,446 c | 1,119 b |
| <i>T. asperellum</i> T 109 | 1,422 c | 1,146 b |
| <i>T. asperellum</i> T 109–T 84 | 1,460 c | 1,200 b |
| Triabendazol® | 0,413 a | 0,599 a |

* Tratamientos similares tienen una misma letra ($\alpha=0,05$)

Incidencia de Spongospora subterranea Experimentos 1 y 2.

La variable número de nódulos de ambos experimentos se analizó mediante un modelo de regresión lineal general en una distribución de Chi-cuadrado, mediante el cual se verificó la diferencia estadística entre tratamientos, todos estos resultaron ser diferentes al control absoluto. En el Experimento 1, se presentaron diferencias estadísticas en el número de nódulos/raíz entre los tratamientos inoculados con *T. asperellum* y el grupo de aquellas plantas que no recibieron ningún tratamiento y las aplicadas con tratamiento convencional. Los tratamientos con *T. asperellum* presentaron menor número de nódulos por raíz (Figura 1), alcanzando el mínimo valor las plantas inoculadas con el aislamiento T-109, seguido por aquellas inoculadas con T-84, las plantas inoculadas con la mezcla de ambos aislamientos de *T. asperellum* mostraron un número mayor de nódulos que en aquellos tratamientos donde se aplicó individualmente cada uno de los aislamientos, indicando esto que la mezcla no presentó un efecto aditivo de control para las condiciones de este experimento y sugieren una competencia intraespecífica de los aislamientos de *T. asperellum*. Las plantas a las cuales se les aplicó el tratamiento convencional presentaron la mayor incidencia de la

enfermedad en sus raíces, entendida como número de nódulos, por lo cual para las condiciones de este experimento el fungicida no cumplió su objetivo de controlar *S. subterranea*, incluso con mas baja efectividad que la de plantas que no recibieron aplicación de ningún agente de control.

Los resultados del Experimento 2, son similares al primero, en el cual los tratamientos con *T. asperellum* presentaron un número de nódulos menor, siendo el tratamiento con T-109 el que presentó valores menores, pero en este caso la mezcla de T-84/T-109 presentó valores de reducción de nódulos significativos. El tratamiento con T-84 aplicado de manera individual disminuyó su eficacia, ubicándose en la prueba de comparación de medias en el mismo grupo que el control absoluto. De nuevo las plantas tratadas con fungicida presentaron el número de nódulos mas alto por raíz, indicando que bajo las condiciones experimentales probadas este tratamiento no mostró efectividad alguna en el control de la enfermedad, además si se tiene en cuenta el hecho de que estas plantas también registraron el peso seco mas bajo como se indicó en análisis anteriores, la planta de papa no está siendo favorecida por la aplicación del fungicida.

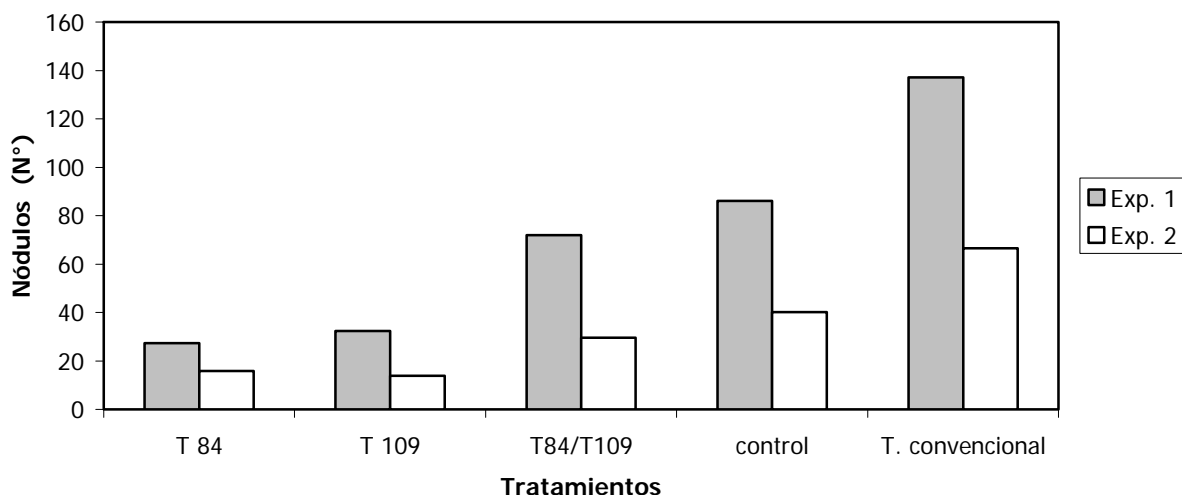


Figura 1. Número de nódulos de *Spongospora subterranea* en raíces de papa inoculadas con *Trichoderma asperellum* T84 y T-109.

La enfermedad es variable en su ataque en incidencia y severidad. Al respecto numerosos trabajos demuestran que no existe correlación entre el inóculo y el grado de infección (Jaramillo y Botero, 2007; Van de Graff *et al.*, 2007), de igual forma su control o regulación biológica puede serlo puesto que se ignoran los determinantes de patogénesis/control de este microorganismo, la Figura 1 en la cual se diagrama el número de nódulos no transformados en cada tratamiento muestra este mismo fenómeno, y se grafica sin desviaciones estándar, debido a que la variable tiene rangos de variación muy amplios, no obstante, esta sirve para observar la tendencia en reducción de nódulos en las plantas tratadas con *T. asperellum*, en el Experimento 1 es menor que en el Experimento 2 (Figura 1), esto posiblemente debido a que el tiempo de exposición de la planta al patógeno fue mayor, presentándose un 250% menos de nódulos de *S. subterranea* (variable no transformada) que las plantas donde se aplicó el hongo antagonista que en las plantas tratadas con el fungicida utilizado. Podría pensarse que este porcentaje de regulación de *Trichoderma* sobre un protozoo que es endófito en su ataque a la planta y cuyas estructuras no permanecen fuera de la raíz se deba a un efecto de antibiosis del hongo antagonista en el suelo sobre los propágulos infectivos del fitopatógeno; tampoco puede descartarse un efecto del hongo en las sucesiones microbianas del suelo y

la incidencia de la rizosfera de la papa sobre estas, que de alguna forma puedan desfavorecer el ataque de la enfermedad.

Aunque la acción de *Trichoderma* sobre *S. subterranea* no cuenta con otra referencia que el trabajo realizado por Nielsen y Larsen (2004) cabe aclarar que las explicaciones al fenómeno de regulación biológica en este caso son preliminares, y no se puede afirmar que sea directamente *T. asperellum* quien ejerza acción reguladora sobre *S. subterranea*. Es de tener en cuenta que las sucesiones microbianas y por ende la dinámica del suelo en términos de regulación biológica, está determinado por tres factores principales: la planta como principal proveedor de energía a la rizosfera, el tipo de suelo como sustrato (contenido de materia orgánica, textura, estructura, retención de agua, etc.) y el manejo de este en términos de fertilidad y labores (Cook, 2007; Borneman y Becker, 2007). La supresión de la enfermedad en el suelo, es un fenómeno dependiente de los procesos microbianos que ocurren en microhábitats y biosferas de microorganismos, en el cual el concepto de comunidad microbiana y estabilidad de la misma es determinante (Garbeva *et al.*, 2004).

Los resultados aquí expuestos son una contribución al entendimiento de la bioregulación de *S. subterranea* con *Trichoderma* spp., para el cual son

bien conocidos los mecanismos, enzimas, toxinas y metabolitos que bloquean los patógenos (Harman, 2006), teniendo en cuenta que cada vez toma más fuerza la idea de que para que la bioregulación suceda, es necesaria la presencia de grupos funcionales con potenciales efectos sobre otros microorganismos y su dinámica o interacciones con los otros allí existentes y por supuesto la planta (Cok, 2007, Hoitink *et al.*, 2006). En este orden de ideas se deben considerar como promisorios los aislamientos de *T. asperellum* evaluados en invernadero para bioregulación de *S. subterranea*, pero no se puede afirmar que sea debido a interacciones microorganismo/microorganismo o microorganismo/planta, por lo cual ocurre la disminución del número de nódulos causados sobre la planta; sugiriendo de forma preliminar, que el aumento de peso de la planta puede ser debido a tres posibles mecanismos: Escape de esta a los propágulos infectivos del protozoo fitopatógeno, también es posible que metabolitos que actúen directamente sobre *S. subterranea* y una última opción puede ser que el hongo antagonista modifique o actúe en las sucesiones particulares del suelo empleado en el experimento y se halle involucrado un tercer tipo de microorganismo o metabolito que tengan acción directa en supresión de la enfermedad, como puede ocurrir en interacciones *Trichoderma*-planta (Woo *et al.*, 2006). Esto puede explicar la relativa discordancia que existe entre los resultados de las evaluaciones *in Vitro*, de invernadero y de campo en cuanto a bioregulación (Hoyos *et al.*, 2008) y hace necesario el entendimiento de las interacciones planta-fitopatógeno-bioregulador desde su biología y ecología, que permita valorar su potencial aplicación masiva.

CONCLUSIONES

Consistentemente, las plantas tratadas con *T. asperellum* T-84 y T109 aumentaron el peso fresco (Experimento 1 a las 9 semanas) y peso seco (Experimento 2 a las 12 semanas) solos o en mezcla.

El número de nódulos de *S. subterranea* en raíces de papa (severidad) disminuyó por las aplicaciones de *T. asperellum* T-84 y T109, actuando mejor en aplicaciones solos que en mezcla.

Bajo las condiciones experimentales probadas, las aplicaciones del fungicida al tubérculo presentaron un efecto detrimental en peso, incluso inferior al testigo absoluto y no mostraron efecto en control de *S. subterranea*.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue patrocinado parcialmente por Colciencias beca 22130712531, Corporación para Investigaciones Biológicas, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín y CEVIPAPA.

BIBLIOGRAFÍA

- Borneman, J. and O. Becker. 2007. Identifying microorganisms involved in specific pathogen suppression in soil. *Annual Review of Phytopathology* 45: 153–172.
- Cook, R.J. 2007. Tell me again what it is that you do?. *Annual Review of Phytopathology* 45: 1–23.
- Davis, R.M., J. Nunez, C. Smart, U.C. Davis. 2000. Management guidelines for powdery scab on potato. En: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r607100911.html>; consulta: noviembre 2006.
- Garbeva, P., J.A. van Veen and J.D. van Elsas. 2004. Microbial diversity in soil: Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annual Review of Phytopathology* 42: 243–270.
- Ghorbani, R., S. Wolcockson and C. Leifert. 2005. Alternative treatments for late blight control in organic potato: antagonistic microorganisms and compost extracts for activity against *Phytophthora infestans*. *Potato Research* 48 (3-4): 181-189.
- Harman, G.E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96(2): 190-194.
- Hoitink, H.A.J., L.V. Madden and A.E. Dorrance. 2006. Systemic resistance induced by *Trichoderma* spp.: Interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agent, and soil organic matter quality. *Phytopathology* 96(2): 186-189.

- Hoyos, L. 2007. Diversidad de aislamientos neotropicales de *Trichoderma* spp. y su potencial en estimulación de crecimiento de frijol *Phaseolus vulgaris* L. Tesis de doctorado en Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Antioquia. Medellín.
- Hoyos, L., P. Chaparro, M. Abramsky, I. Chet y S. Orduz. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolsii* bajo condiciones *In Vitro* y de invernadero. Revista Agronomía Colombiana. En edición.
- Hoyos, L., M. Villegas, P. González. 2008. Observaciones preliminares de estructuras celulares asociadas a *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* en sus hospederos. En edición.
- Hoyos, L., P. Agudelo, S. Orduz. 2001. Control biológico de *Phytophthora* con *Trichoderma* spp. En: Memorias. XXII Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología. Asociación Colombiana de Fitopatología y Afines. Medellín
- Jaramillo S. y J.M. Botero. 2007. Respuesta de diferentes poblaciones de *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* con rotación entre dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* spp. *andigena*). Revista Facultad Nacional de Agronomía 60(2): 3859-3876.
- Nielsen, S.L. and J. Larsen. 2004. Two *Trichoderma harzianum*-based biocontrol agents reduce tomato root infection with *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh., f. sp. *subterranea*, the vector of potato mop-top virus. Journal of Plant Diseases and Protection 111(2): 145-150.
- Peña, L.A. 2000. La roña de la papa (*Spongospora subterranea* Wallr). Boletín de la Papa 2(19): 1-2.
- Restrepo, V., L. Hoyos y S. Orduz. 2001. Control biológico de *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum gloeosporioides* con *Trichoderma*. En: Memorias. XXII Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología. Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines. Medellín.
- Stat Soft Inc. 1998. Statistica Software, versión 5.1. Stat Soft, Tulsa.
- Stephan, D., A. Schmitt, S. Martins Carvalho, B. Seddon and E. Koch. 2005. Evaluation of biocontrol preparations and plant extracts for the control of *Phytophthora infestans* on potato leaves. European Journal of Plant Pathology 112(3): 235-246.
- Qu, X. and B. Christ. 2006. The host range of *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* in the United States. American Journal of Potato Research 83: 343-347.
- Van de Graff P., S.J. Wale and A.K. Lees. 2007. Factors affecting the incidence and severity of *Spongospora subterranea* infection and galling in potato roots. Plant Pathology 56(6): 1005-1013.
- Woo, S.L., F. Scala, M. Ruocco and M. Lorito. 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. Phytopathology 96(2): 181-185.