

Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero

Effect of *Trichoderma harzianum* and compost in nursery *Pinus radiata* seedling

Eduardo Donoso^{a*}, Gustavo A Lobos^a, Nadia Rojas^b

*Autor de correspondencia: ^aBio Insumos Nativa Ltda., casilla 16 D, San Javier, fono-fax 56-73-324306, edonoso@utalca.cl
^bUniversidad de Talca, Centro Regional de Tecnología e Industria de la Madera.

SUMMARY

The Chilean forest industry represents the second source of incomes, after copper, where *Pinus radiata* is the major cultivated species; this production level has generated new alternatives searching to increase the quality of pine seedlings. The use of organic sources of fertilization and the use of fungi, like *Trichoderma harzianum*, arise as production alternatives. This study evaluated plant growth stimulation activity of native strain of *T. harzianum* on *Pinus radiata* seedling and the effect of compost as substratum in the interaction of these organisms, both plant (fitness) and fungus (population). The results indicated a positive significant interaction between *T. harzianum* and compost over height and biomass of the plants, as well as in the development of the radical system, by the combination of compost and *T. harzianum*. Compost increases the size and population rate of *T. harzianum*. Compost substratum inoculated with *T. harzianum* increases significantly the fitness of *P. radiata* seedling. The involved mechanisms have not been elucidated.

Key words: pine, growth stimulation, *Trichoderma*, compost.

RESUMEN

La industria forestal en Chile representa la segunda fuente de divisas, donde *Pinus radiata* es la principal especie cultivada, lo que ha generado la búsqueda de nuevas alternativas para incrementar tanto la producción como la calidad de las plántulas. Entre éstas se encuentran el uso de fuentes orgánicas de fertilización y el uso de hongos como *Trichoderma harzianum*. Este estudio pretende determinar la capacidad estimulante de una cepa nativa de *T. harzianum* sobre plántulas de *Pinus radiata* y el efecto del uso de compost como sustrato sobre esta interacción, tanto desde el punto de vista de la planta (vigor) como del hongo (poblacional). Los resultados obtenidos indican que la presencia conjunta de compost y *T. harzianum* permite un incremento significativo en altura y biomasa de las plantas, así como el desarrollo del sistema radical. Por su parte, la presencia de compost estimula un incremento poblacional del hongo *T. harzianum*, indicando que la inoculación de los sustratos utilizados para producción de plántulas de *P. radiata* con *T. harzianum* generaría un incremento significativo en el vigor de las plántulas producidas. Los mecanismos involucrados no han sido dilucidados.

Palabras clave: pino, estimulación del crecimiento, *Trichoderma*, compost.

INTRODUCCIÓN

La industria forestal representa la segunda fuente de divisas en Chile, donde *Pinus radiata* D. Don es la principal especie, alcanzando exportaciones de 2.205 millones de dólares en madera y productos elaborados (INFOR 2005). Este nivel de exportaciones genera una fuerte presión sobre la producción de plantas, incidiendo directamente en que los viveros busquen nuevas alternativas para incrementar tanto la producción como la calidad de las plántulas.

Hasta ahora el uso de microorganismos para mejorar el desarrollo de plantas de *P. radiata* se ha basado principalmente en las ectomicorrizas, consideradas un factor fundamental para el crecimiento normal de las pináceas (Meyer 1973, Harley y Smith 1983). Los beneficios obtenidos

varían según las condiciones ambientales y con la asociación particular de las especies involucradas (Trappe 1977, Bledsoe 1992). En general, las plántulas ectomicorrizadas poseen una mejor adaptación al estrés hídrico (Duddridge *et al.* 1980, Boyd *et al.* 1986, Reid *et al.* 2002) y una mayor supervivencia en las plantaciones (Wright 1957, 1971, Castellano y Molina 1989). No obstante lo anterior, hongos no micorrícicos pueden estimular el crecimiento de plantas cultivadas (Rabeendran *et al.* 2000), éste es el caso de *Trichoderma harzianum* (Rifai) (Deuteromycetes). Esta especie es reconocida por sus características como biocontrolador de patógenos del suelo (Elad *et al.* 1987, 1980, Harman *et al.* 1981, Harman y Kubicek 1998) y por ser un habitante común del suelo, cosmopolita, saprofíto y normalmente asociado a la rizósfera (Cook y Baker

1989). En varios estudios de control de patógenos, bajo condiciones axénicas, se ha observado que *T. harzianum* no sólo redujo la severidad de estas enfermedades sino que también indujo la estimulación del crecimiento de las plantas, existiendo sólo reportes en especies herbáceas como lechuga (*Lactuca sativa* Linnaeus) (Baker 1988, Lynch *et al.* 1991), maíz (*Zea mays* Linnaeus) (Blanchard y Björkman 1996), tabaco (*Nicotiana tabacum* Linnaeus), zapallo (*Cucurbita maxima* Linnaeus) (Chang *et al.* 1986, Kleifeld y Chet 1992), petunia (*Petunia hybrida* Linnaeus) (Ousley *et al.* 1994), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) (Windham *et al.* 1986), entre otras, no existiendo reportes en especies forestales.

La estimulación de los mecanismos de defensa de las plantas, producto de las aplicaciones de *T. harzianum* junto con los mecanismos de control puede, en alguna medida, explicar la estimulación de crecimiento (Bailey y Lumsden 1998, Kleifeld y Chet 1992). Pese a lo anterior, también se ha observado este efecto en cultivos bajo condiciones controladas, donde se han generado ambientes libres de patógenos (Windham *et al.* 1986, Kleifeld y Chet 1992).

El presente estudio busca determinar la capacidad estimulante de una cepa nativa de *T. harzianum* sobre plántulas de *Pinus radiata* y el efecto del uso de compost como sustrato sobre esta interacción, tanto desde el punto de vista de la planta (vigor) como del hongo (poblacional).

MÉTODOS

En el ensayo se utilizaron estacas de *P. radiata*, de 5 cm obtenidas desde la misma planta madre, sin enraizar, las que fueron cultivadas en tubos de polietileno (Termomatrices®, Santiago Chile) de 125 mL de capacidad. Las estacas se mantuvieron bajo invernadero, con riego por aspersión y fertiirrigación, utilizando dosis y concentraciones estándares para la especie. El sustrato base se compuso de turba y perlita, en una proporción volumétrica 1:1, y esterilizada por vapor (100 °C por 30 minutos).

Fue utilizada la cepa de *Trichoderma harzianum* Queule, extraída de la Reserva Nacional Los Queules (altitud 503 m s.n.m., 35°59'10,5" S, 72°41'35,9" O) y que se encuentra depositada en la colección del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Talca, comercializada bajo el nombre de Trichonativa® (Bio Insumos Nativa Ltda.).

El compost fue generado a partir de restos de tomate, guano y tierra, y presentó una relación C/N de 12; 1,7% de nitrógeno, 0,91% de fósforo, 1,2% de potasio, 1,42% de calcio y 29,8% de materia orgánica.

Se realizó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 2x2, siendo los factores *T. harzianum* (presencia y ausencia) y sustrato (perlita y perlita + compost). En este caso la proporción volumétrica de componentes del sustrato fue 1:1. Cada tratamiento tuvo cinco réplicas, constituidas por 20 estacas cada una. Así, los tratamientos fueron los

siguientes: control turba + perlita (T0), *T. harzianum* (T1), perlita + compost (T2) y perlita + compost + *T. harzianum* (T3).

Las aplicaciones de *T. harzianum* se realizaron a través de sistema de fertiirrigación, utilizando la dosis de 1 litro del formulado comercial (1×10^9 conidias/mL) en 200 litros, equivalente a una dosis de 2×10^6 conidias/estaca.

El ensayo tuvo una duración de siete meses. Se evaluó el área radicular, para lo que se extrajeron las plantas desde los contenedores y se colocaron en recipientes con agua con detergente (Tween 20 0,5 mL/L) en agitación (120 r.p.m.) hasta que las raíces estuvieran libres de restos del sustrato, evitando así pérdida de material radicular. Luego, las raíces se extendieron sobre una superficie graduada, donde fueron escaneadas y, una vez digitalizadas las imágenes, éstas se analizaron a través del *software* Root Tracker (Metacard Corp. USA). También se evaluaron la altura de las plantas, desde cuello hasta ápice, la biomasa aérea, de raíces y total. Con el fin de determinar el efecto del uso de compost en el sustrato, se cuantificaron las poblaciones de *T. harzianum*. Fueron estudiadas cinco días después de establecido el ensayo y una vez finalizado. Muestras de 5 g del suelo adherido a las raíces fueron suspendidas en 100 mL de agua destilada estéril y mantenidas en agitación por 30 minutos a 250 r.p.m., colectándose alícuotas de 1 mL, las que fueron sembradas en medio selectivo para *T. harzianum* (TSM) compuesto por (g/L): 1,0 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$; 0,26 KNO_3 ; 0,26 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,12 KH_2PO_4 ; 1,0 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,05 ácido cítrico; 2,0 sucrosa; 20,0 agar; 1,0 Flint 50% WG (Trifloxystrobin, Bayer Alemania); 0,005 clortetraciclina; 0,004 captan 80% WG (Captan, Arvesta Corporation USA); 0,0025 Previcur N (Propamocarb HCl, Aventis Crop Science Alemania) (modificación del medio de Smith y Jones (1963)). Las placas sembradas fueron incubadas a 25 °C por siete días para proceder a contar las unidades formadoras de colonias (UFC). Para validar la eficacia de las medidas de esterilización y descartar o constatar la presencia de organismos patógenos, plantas al azar y muestras de suelo fueron analizadas en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Talca. Estas muestras de suelo y plantas no evidenciaron presencia de agentes patógenos y no se detectaron plantas con sintomatología de enfermedades vasculares o de otra índole, por lo que se pudo excluir un efecto de patógenos sobre la interacción *T. harzianum*-*P. radiata*.

Los datos obtenidos fueron sometidos a las pruebas de Kolmogorov-Smirnov (normalidad) y Bartlett (homocedasticidad) (Sokal y Rohlf 1995) y en los casos que no se cumplieron, se aplicaron transformaciones según Box-Cox (Box y Cox 1964). Consecuentemente, los datos de las variables de vigor de *P. radiata* se sometieron a un ANDEVA. A su vez, las mediciones de población iniciales y finales de *T. harzianum* se sometieron a un ANDEVA de medias repetidas en el tiempo, luego se aplicó la prueba *a posteriori* de separación de medias de Tukey HSD. Adicionalmente se calculó la tasa de crecimiento, para cada repetición, según la

fórmula $r = \ln(N_f/N_o)$, donde N_o es el número de UFC en la primera medición de población y N_f la medición de UFC al final del experimento; los valores de r obtenidos para cada repetición fueron sometidos a un ANOVA y, al presentar diferencias significativas, a la prueba de separación de medias de Tukey HSD.

RESULTADOS

El análisis estadístico mostró que el compost afectó las variables altura de planta ($P = 0,03$) y biomasa aérea ($P < 0,001$) y total ($P < 0,001$), pero no tuvo influencia sobre el desarrollo de raíces, a diferencia de *T. harzianum*, que sólo generó un efecto significativo en área radicular ($P = 0,0171$). El peso seco de raíces no fue influenciado por ninguno de los factores ($P = 0,072$). La interacción entre ambos factores fue significativa para todas las variables a excepción de la biomasa radicular. Así, la aplicación de compost más *T. harzianum* incrementó en forma significativa el área radicular ($P = 0,035$), la altura ($P < 0,001$), la biomasa total ($P < 0,001$) y la aérea ($P < 0,001$) (cuadros 1 y 2).

Cuadro 1. Valores de probabilidad (P) de los ANDEVA para los efectos de *Trichoderma harzianum* y compost sobre variables de vigor de plántulas de *P. radiata* ($N = 100$).

ANOVA probability values (P) for the effect of *Trichoderma harzianum* and compost over *P. radiata* seedlings fitness variables ($N = 100$).

Factores	Área de raíces	Altura	Biomasa total	Biomasa aérea	Biomasa radicular
A) <i>T. harzianum</i>	0,3285	0,0002	0,0000	0,0000	0,6486
B) Compost	0,0170	0,2281	0,3294	0,3358	0,6486
A x B	0,0350	0,0000	0,0023	0,0023	0,1275

La mayor área de raíces se alcanzó con la combinación de *T. harzianum* más compost (T3), siendo el

Cuadro 2. Efecto de compost y *T. harzianum* sobre el área de raíces, la altura y la biomasa total, aérea y de raíces. Columnas seguidas de letras iguales indican ausencia de diferencias significativas (Tukey HSD, $P < 0,001$).

Compost and *T. harzianum* effects over root area, seedlings height and biomass. Columns followed by equal letters show non-significant differences (Tukey HSD, $P < 0,001$).

Sustrato	<i>T. harzianum</i>	Área raíces* (cm ²)	Altura*** (cm)	Biomasa** total (g)	Biomasa aérea*** (g)	Biomasa radicular ^{ns} (g)
Perlita + turba	Ausencia	81,1 b	22,6 b	4,7 b	3,7 b	0,011 a
Perlita + compost	Presencia	87,7 ab	25,2 b	5,5 b	4,5 b	0,020 a
Perlita	Ausencia	86,4 ab	24,4 b	5,9 b	4,9 b	0,015 a
Perlita + compost	Presencia	101,8 a	29,3 a	7,7 a	6,6 a	0,012 a

*: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; ***: $P < 0,001$; ns: no significativo.

único tratamiento que se diferenció del control. La altura de las plantas mostró el mayor valor en el tratamiento perlita + compost + *T. harzianum*, diferenciándose tanto del control como de los otros tratamientos, los que no mostraron diferencias significativas entre ellos (cuadro 2). En las variables biomasa total y aérea sólo el tratamiento de compost más *T. harzianum* (T3) se diferenció del tratamiento control, alcanzando los mayores valores en ambas variables. En cuanto a biomasa radicular, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos y el control. Otro resultado asociado a las variables de vigor es la mayor homogeneidad de las plantas tratadas con compost más *T. harzianum* (figura 1).

Respecto al efecto de la presencia de compost sobre *T. harzianum*, el análisis estadístico indicó un incremento significativo en el tiempo de las poblaciones de este hongo ($P = 0,0009$), a diferencia del tratamiento de perlita + turba, donde no se apreció una variación significativa en el tamaño poblacional (figura 2). Así, la tasa de crecimiento poblacional fue afectada en forma significativa por el sustrato ($P < 0,0001$) presentando un valor positivo en presencia de compost, lo que es significativamente distinto de la tasa negativa observada en el tratamiento de perlita + turba. Es decir, hubo una interacción significativa ($P = 0,0000$) entre los factores tiempo y sustrato (figura 2).

DISCUSIÓN

Se ha postulado que plantas que provienen de ambientes pobres en nutrientes normalmente poseen una baja respuesta a incrementos de éstos (Chapin 1988), así como a la estimulación por parte de hongos micorrícicos (Allsop y Stock 1993). Pese a que *P. radiata* se considera una planta pionera que coloniza suelos pobres (Richardson y Bond 1991), se ha visto que es capaz de responder tanto a manejos productivos como a la presencia de hongos micorrícicos (Allen 1987, Loxton y Donald 1987). El presente ensayo evidenció que las variables evaluadas no respondieron a las aplicaciones de compost o de *T. harzianum* en forma aislada (cuadro 1), pero sí a la combinación de ambos.

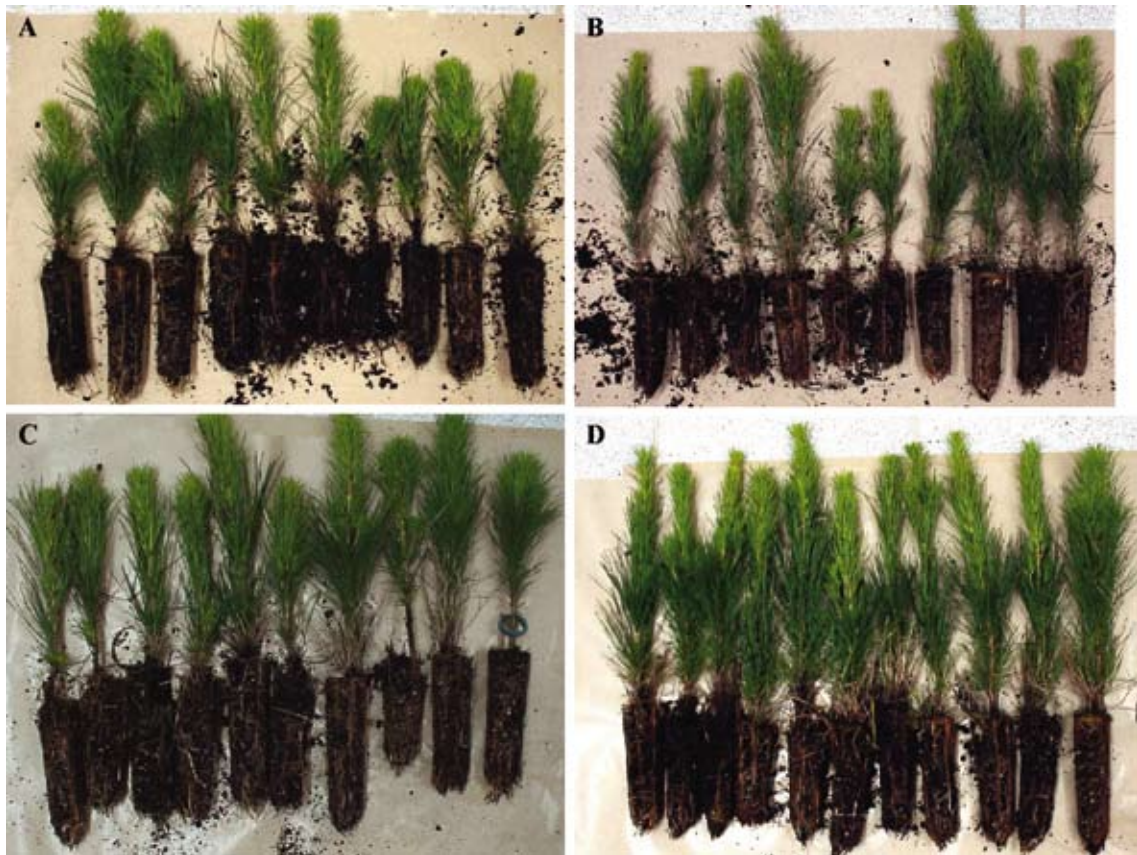


Figura 1. Aspecto de plántulas de *P. radiata* producidas, bajo los tratamientos A) control (turba + perlita), B) perlita + compost, C) *T. harzianum* y D) perlita + compost + *T. harzianum*.

Aspect of *P. radiata* seedlings, under the treatments A) Control (turbe + perlita.), B) Perlita + Compost, C) *T. harzianum* y D) Perlita + Compost + *T. harzianum*.

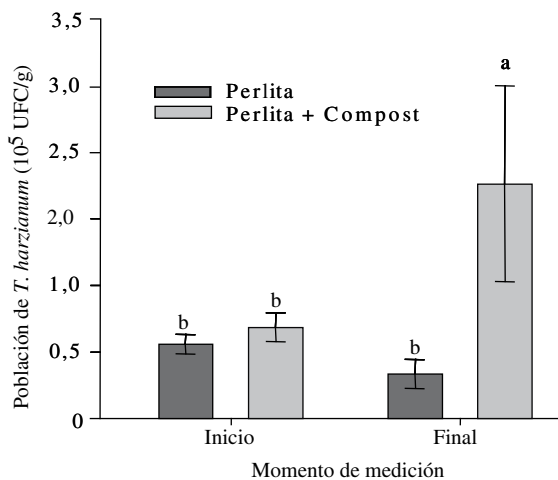


Figura 2. Tamaño poblacional de *T. harzianum*, con distintos sustratos para producción de plántulas de pino, mediciones al inicio como al final del experimento (medias repetidas en el tiempo). Letras iguales indican ausencia de diferencias significativas (Tukey HSD, $P < 0,001$).

Population size of *T. harzianum* under the different substrata for *P. radiata* seedling production. Measurements also at the beginning and end of the experiment (Time repeated measures). Equal letters show non-significant differences (Tukey HSD, $P < 0.001$).

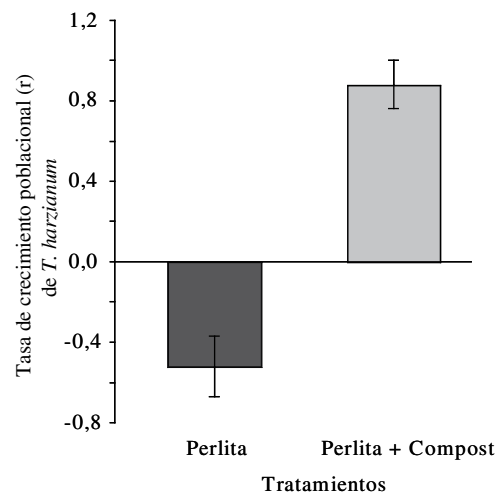


Figura 3. Tasa de crecimiento poblacional de *T. harzianum*, en plántulas de pino con distintos sustratos, tanto al inicio como al final del experimento. Letras iguales indican ausencia de diferencias significativas (Tukey HSD, $P < 0,05$).

Population growth rate (r) of *T. harzianum* under the different substrata for *P. radiata* seedling production. Equal letters show non-significant differences (Tukey HSD, $P < 0.05$).

Ello indicaría que *T. harzianum* estaría modulando la respuesta en esta especie a la presencia de compost, lo que podría ser explicado por un aumento del desarrollo radicular (cuadro 2), también reportado por varios autores (Blanchard y Björkman 1996, Windham *et al.* 1986), lo que le permitiría a las plantas aprovechar el incremento en la disponibilidad de nutrientes. Otra posibilidad es que el compost presente nutrientes importantes, pero no de una forma disponible para su absorción, siendo el hongo el que mediante diferentes mecanismos permita su absorción. Esta hipótesis se respalda por la capacidad de liberar ácidos orgánicos que secuestran cationes y acidifican el microambiente alrededor de las raíces, lo que es un mecanismo de solubilización de fósforo, manganeso, hierro y zinc, realizado también por plantas y hongos micorrícicos no versículo arbusculares (Sivan *et al.* 1987, Sivan y Chet 1993, Altomare *et al.* 1999). Se ha reportado que *T. harzianum* es capaz de producir sideroforos que quelatan Fe, Fe₃₊ y Cu₂₊ (Altomare *et al.* 1999), lo que generaría un incremento en la altura y biomasa de las plantas (cuadro 2), y finalmente existe la posibilidad que la presencia de compost produzca un incremento poblacional de *T. harzianum*, alcanzando un umbral que desencadene la estimulación de crecimiento de *P. radiata*.

Estudios en resistencia sistémica adquirida a fitopatógenos en respuesta a la interacción planta-*Trichoderma* han revelado la acumulación de mRNAs asociados a genes de defensa involucrados en la producción y acumulación de fitoalexinas, habiéndose demostrado que este mecanismo no está relacionado con la estimulación de crecimiento (Yedidia *et al.* 2003). Pese a todos los estudios disponibles, la naturaleza genética y molecular de estos efectos no ha sido explicada (Harman *et al.* 2004).

La mayoría de los estudios existentes sobre estimulación de crecimiento de plantas generado por *Trichoderma spp.* no abordan la dinámica del hongo. Es por eso que este estudio, además de cuantificar el efecto de *T. harzianum* sobre *P. radiata*, también evaluó el efecto de la adición de compost sobre el hongo. En el estudio, las poblaciones de *T. harzianum* y su tasa de crecimiento poblacional se vieron incrementadas en forma significativa por la presencia de compost en el sustrato (cuadros 1 y 2). Ello concuerda con otros autores que han reportado que poblaciones de *T. harzianum* estarían asociadas a la abundancia de carbono orgánico (Eastburn y Butler 1988). Sería interesante evaluar los efectos de *T. harzianum* y compost sobre la supervivencia de *P. radiata* trasplantado y la respuesta frente a la presencia de patógenos como *Fusarium spp.* y *Phytophthora spp.*, sobre los cuales existen reportes de control efectivo con cepas de *Trichoderma spp.* (Smith y Jones 1963, Sivan *et al.* 1987, Sivan y Chet 1993).

Pese a la falta de entendimiento de los mecanismos involucrados, este trabajo permite concluir que la presencia de compost estimula un incremento poblacional del hongo *T. harzianum*. Y la inoculación de los sustratos utilizados para producción de plántulas de *P. radiata* con

T. harzianum, generaría un incremento significativo en el vigor de las plántulas producidas.

AGRADECIMIENTOS

A Marcel Labra, Walter Hettich y Juan Pablo Cárdenas por su importante cooperación en el desarrollo de este ensayo.

REFERENCIAS

- Altomare C, W Norvell, T Björkman, G Harman. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai strain 1295-22. *Applied Environmental Microbiology* 65: 2926-2933.
- Allen LH. 1987. Forest Fertilizers. *Journal of Forestry* 85: 37-46.
- Allsop N, W Stock. 1993. Mycorrhizas and seedling growth of show-growing sclerophylls from nutrient-poor environments. *Acta Oecologica* 5: 577-587.
- Bailey B, A Lumsden 1998. Direct effect of *Trichoderma* and *Gliocladium* on plant growth and resistance to pathogens. In Harman G, C Kubicek, eds. *Trichoderma and Gliocladium. Vol. II Enzymes, biological control and commercial applications*. London, England. Taylor and Francis. p. 185-204.
- Baker R. 1988. Improved *Trichoderma spp.* for Promoting Crops Productivity. *Trends In Biotechnology* 7:34-38.
- Blanchard L, T Björkman. 1996. The role of auxin in enhanced root growth of *Trichoderma*-colonized sweet corn. *HortScience* 31: 688 -700.
- Bledsoe CS. 1992. Physiological ecology of ectomycorrhizae: implications and field application. In Allen M ed. *Mycorrhizal functioning*. New York, USA. Chapman and Hall. p. 424-437.
- Boyd R, RT Furbank, DJ Read. 1986. Ectomycorrhizae and water relation of trees. *Proceedings of the 1st. European Symposium on Mycorrhizae*, Paris, Institut National de la Recherche Agronomique.
- Box GE, DR Cox. 1964. An analysis of transformations. *Journal of Royal Statistical Society, Series B* 26: 211-246.
- Castellano M, R Molina. 1989. Mycorrhizae. The Container Tree Nursery Manual. In Landis T, R Tinus, S Mc Donald, J Barnett, eds. *The Nature and practice of biological control of plant pathogens*. II Edition. U.S. Department of Agriculture, Forest Service. USA. p. 355-362.
- Cook J, K Baker. 1989. *The nature and practice of biological control of plant pathogens* II edition. New York, USA. Academic Press. p. 539.
- Chang YC, R Baker, O Kleifeld, I Chet. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease* 70: 145-148.
- Chapin F. 1988. Ecological aspects of plant mineral nutrition. *Advances in Mineral Nutrition* 3: 161-191.
- Duddridge JA, A Malibari, DJ Read. 1980. Structure and function of mycorrhizal rhizomorphs with special reference to their role in water transport. *Nature* 287: 834-836.
- Eastburn DM, EE Butler. 1988. Microhabitat characterization of *Trichoderma harzianum* in natural soil: Evaluation of fac-

- tors affecting distribution. *Soil Biology and Biochemistry* 20: 547-553.
- Elad Y, I Chet, J Katan. 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 3: 119-121.
- Elad Y, Z Sadowsky, I Chet. 1987. Scanning electron microscopical observations of early stages of interaction of *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*. *Trans Br. Mycology. Society* 88: 259-263.
- Harley JL, SE Smith. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. New York, USA. Academic Press. 605 p.
- Harman G, C Kubicek. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol. 2. Enzymes, biological control and commercial applications. London, England. Taylor and Francis. 393 p.
- Harman G, I Chet, R Baker. 1981. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as a biocontrol agent. *Phytopathology* 71: 569-572.
- Harman G, C Howell, A Viterbo, I Chet, M Lorito. 2004. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2: 43-56.
- INFOR (Instituto Forestal, CL). 2005. Boletín Estadístico N° 109. U. d. E. y Mercado, Ed., INFOR.
- Kleifeld O, I Chet. 1992. *Trichoderma harzianum* - interactions with plants and effect on growth response. *Plant and Soil* 144: 267-272.
- Loxton R, D Donald. 1987. The effect of Nitroacta (Urea Formaldehyde) on the growth and development of *Eucalyptus grandis* and *Pinus elliottii*. *South African Forestry Journal* 142: 68-70.
- Lynch J, K Wilson, M Ousley, J Whipps. 1991. Response of lettuce to *Trichoderma* treatment. *Letters in Applied Microbiology* 12: 56-61.
- Meyer FH. 1973. Distribution of ectomycorrhiza in native and man made forest. In Marks GC, TT Kozlowsky eds. *Ectomycorrhizae, their ecology and physiology*. New York, USA. Academic Press. p. 87-105
- Ousley M, J Lynch, J Whipps. 1994. Potential of *Trichoderma spp.* as consistent plant growth stimulators. *Biol. Fertilization Soils* 17:85-90.
- Rabeendran N, D Moot, E Jones, A Stewart. 2000. An inconsistent growth promotion of cabbage and lettuce from *Trichoderma* isolates. 53rd Conference Proceedings of The New Zealand Plant Protection Society Incorporated. p. 143-146.
- Reid TC, MK Hausbeck, K Kizilkaya. 2002. Use of fungicides and biological controls in the suppression of Fusarium crown and root rot of asparagus under greenhouse and growth chamber conditions. *Plant Disease* 86: 493-498.
- Richardson D, W Bond. 1991. Determinants of plant distribution: evidence from pine invasions. *American Naturalist* 137(5): 639-668.
- Sivan A, I Chet. 1993. Integrated control of Fusarium crown and root rot of tomato with *Trichoderma harzianum* in combination with methyl bromide or soil solarization. *Crop Protection* 12(5): 380-386.
- Sivan A, O Ucko, I Chet. 1987. Biological control of Fusarium crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. *Plant Disease* 71: 587-592.
- Smith HW, JTE Jones. 1963. The effect of the addition of copper sulphate to the diet on the bacterial flora of the alimentary tract of the pig. *J. Appl. Bacteriol.* 26: 262-265.
- Sokal RR, FJ Rohlf. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. 3rd edition. New York USA. WH Freeman and Co. p. 887.
- Trappe JM. 1977. Selection of fungi for inoculation in nurseries. *Annual Rev. Phytopathol.* 15: 203-222.
- Windham M, Y Elad, R Baker. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma spp.* *Phytopathology* 76: 518-521.
- Wright E. 1957. Importance of mycorrhizae to Ponderosa pine seedlings. *Forest Science* 3(3): 275-280.
- Wright E. 1971. Mycorrhizae on douglas fir and Ponderosa pine seedlings. Research Bulletin 13, Paper 670, Oregon State University. 36 p.
- Yedidia I, M Shores, Z Kerem, N Benhamou, Y Kapulnik, I Chet. 2003. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. lachrymans in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of Phytoalexins. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 7343-7353.

Recibido: 11.05.07

Aceptado: 13.12.07