

Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles

The characteristics of *Trichoderma harzianum* as a limiting agent in edible mushrooms

Omar Romero-Arenas¹, Manuel Huerta Lara², Miguel Angel Damián Huato²,
Francisco Domínguez Hernández¹, Daniel Alfonso Arellano Victoria³

Resumen

El incremento dramático de incidencia y severidad de los “mohos verdes” en la producción de hongos comestibles se refleja en la aparición de formas altamente agresivas de éstos patógenos, como es el caso de los biotipos de *Trichoderma harzianum* (Th1, Th2., Th3 y Th4), que han sido encontrados en Europa y Norte América, donde la importancia de la patogenicidad de dicho “moho” se comprobó en 1995 con las pérdidas del 30-100% en las plantas de hongos comestibles en Chester, Pennsylvania. En México se han identificado diversos “mohos contaminantes”, entre los cuales *Trichoderma* spp., se encuentra frecuentemente en la producción de hongos comestibles (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*), en el 2004, un grupo de investigación detectó la presencia de cepas altamente agresivas de *T. aggressivum* f. *aggressivum*, identificadas con técnicas clásicas y moleculares, en muestras de sustrato (compost) contaminado, proporcionado por la principal planta de hongos de México. Actualmente se desconoce la situación sobre la distribución de *Trichoderma harzianum* y los problemas de contaminación en la producción de hongos comestibles, tanto de zonas rurales, como de zonas industrializadas en México, puede causar serias disminuciones en la producción de hongos comestibles y presentar pérdidas económicas para los productores de la región.

Palabras Claves: *T. harzianum*, *T. aggressivum*, patogenicidad, producción de hongos comestibles.

Abstract

The dramatic increase of green mould incidence and severity in edible mushroom production has been reflected in the emergence of highly aggressive forms of these pathogens, such as *Trichoderma harzianum* biotypes (Th1, Th2, Th3 and Th4). These have been found in Europe and North America where the importance of the mould's pathogenicity was discovered in 1995 leading to 30%-100% losses from Th4 in

1 Profesor-Investigador, Escuela de Ingeniería Agroforestal campus Tetela BUAP. biol.ora@hotmail.com

2 Profesor-Investigador, Departamento de Agroecología y Ambiente (DAGAM-BUAP)

3 Alumno. Escuela de Ingeniería Agroforestal Campus Tetela BUAP

edible mushrooms from farms in Chester, Pennsylvania. Several contaminating moulds have been identified in Mexico, *Trichoderma* spp. frequently occurring in edible mushroom production (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*). A research group detected the presence of highly aggressive strains of *T. aggressivum* f. *aggressivum* in 2004, identified by classical and molecular techniques on contaminated substrate (compost) samples provided by the main edible mushroom-growing farm in Mexico. The current situation regarding *Trichoderma harzianum* distribution and contamination problems in edible mushroom production in both rural and industrial areas in Mexico remains unknown. This can lead to a serious decrease in edible mushroom production lead to financial loss for the region's producers.

Key words: *T. harzianum*, *T. aggressivum*, pathogenicity, edible mushroom production.

Recibido: Diciembre 15 de 2008 Aprobado: Octubre 9 de 2009

Aspectos generales de *Trichoderma* spp.

Dentro de los *Ascomycetes*, se incluyen organismos de gran importancia económica, algunos a manera de patógenos y otros como controladores biológicos (productores de antibióticos y micotoxinas). Dentro de este orden se incluye el género *Hypocrea* que generalmente se ha caracterizado como un agente de control biológico, que actúa sobre hongos patógenos de plantas e insectos (Hidalgo, 1989), además se ha visto que *Trichoderma* spp., ha demostrado tener gran agresividad contra diversos hongos cultivados, principalmente el champiñón, seguido del hongo seta (Domsch, *et ál.*; 1993; Rossman, 1996).

Las especies de *Trichoderma* spp, son hongos cosmopolitas y típicamente del suelo que pueden ser llevados a sustratos en el cultivo de hongos comestibles (Klein y Eveleigh, 1998). Se han descrito cerca de 40 taxones de *Trichoderma* spp., hasta la fecha. Sin embargo, basados en su morfología anamorfo del orden de los Hypocreales, el número real podría ser más de 200 taxones (Samuels, 1996). La mayoría de las especies de *Trichoderma* spp., se han descrito de Norteamérica y de Europa, aunque las nuevas investigaciones de otras áreas geográficas conducirán al reconocimiento de las nuevas especies y su interacción en el cultivo de hongos comestibles.

La temperatura óptima para su crecimiento lineal en agar y producción de micelio está

entre 20 y 28 °C, aunque crece bien entre 6 a 32 °C. El contenido mínimo de humedad para su crecimiento vegetativo es del 92% y para su esporulación es de 93 al 95%. Tiene cierta respuesta a la luz, especialmente azul y la violeta. La luz promueve la formación de esporas, el crecimiento de micelio y la coloración (Hidalgo, 1989; Domsch, *et ál.*, 1993). La colonia de superficie blanca y reversa violeta, luego de 4 días de crecimiento en agar maltosa 4% a 25°C el diámetro de la colonia es de 7,1-8,3 cm. El micelio es escaso, de textura velutinoso. La escasa formación de micelio aéreo hace que la superficie sea levemente hirsuta, con el tiempo el centro de la colonia se torna algodonoso y se observa la esporulación en la zona periférica de la colonia en pústulas conidiógenas de color blanco, que luego se tornan verde grisáceo, el medio se torna a color vino tinto (Domsch, *et ál.*, 1993).

Trichoderma spp., un mohó que afecta el cultivo de hongos comestibles

El género *Trichoderma* spp., (Tabla 1) fue introducido a la literatura en 1794 por Person para clasificar cuatro especies que actualmente se consideran no relacionadas entre sí, éstas son: *Trichoderma viride* (Pers.: S.F. Gray), *Xylohiophora nigresce* (Pers.), *Sporotrichum aureum* (Link), y *Trichotecium roseum* (Pers.). La primera delimitación genética de *Trichoderma* spp., la

Tabla 1. Resumen histórico taxonómico del género *Trichoderma* spp., (Bisby, 1939; Rifai, 1969; Bissett, 1984; 1991; 1992; Fletcher, 1987; Doyle, 1991; Seaby, 1987; Castle et ál., 1998; Chen et ál., 1999; Sharma et ál., 1999; Hermosa, 2000; Sobal, 2007).

Autor	Fecha	Comentarios
Persoon	1794	Introduce el género <i>Trichoderma</i> spp., y describe a <i>T. harzianum</i> (Rifai), como sinónimo de <i>Pyrenium lignorum</i> var. <i>vulgare</i> Tode (1790).
Fries	1829	Reduce la sinonimia de ambas especies a <i>T. viride</i> (Pers.: S.F. Gray).
Harz	1871	Realiza la primera delimitación del género con base en observaciones microscópicas de las hialidas.
Tulasne	1860	Identifica a <i>Trichoderma</i> spp., como Fungi Imperfecti.
Saccardo	1885	Crea el género <i>Pachybasium</i> spp., para incluir a 13 especies de <i>Trichoderma</i> spp., excluyendo a <i>T. viride</i> (Pers.: S.F. Gray).
Vuillemin	1887	Transfiere <i>T. viride</i> a <i>Acrostalagmus viride</i> (Pers.: S.F. Gray).
Brefeld	1891	Menciona que <i>Hypocrea rufa</i> es sinónimo de <i>T. viride</i> (Pers.: S.F. Gray).
Oudemans y Koning	1902	Primera descripción de <i>Trichoderma</i> spp., en el suelo. Qudemans identifica a <i>T. koningii</i> (Qudem).
Cook v Taubenhau	1911	Reconocen diferencias entre <i>T. koningii</i> (Qudem.) y <i>T. viride</i> (Pers.: S.F. Gray).
Oale	1912-1914	Describe a <i>T. koningii</i> (Qudem.), <i>T. lignorum</i> (Harz), y <i>T. album</i> (Alb.).
Goddard	1913	Describe a <i>T. nigrovirens</i> (Goddard).
Waksman	1916	Reporta 5 cepas de <i>Trichoderma</i> spp., en el suelo.
Abbott	1926	Describe 4 especies, incluyendo a <i>Trichoderma lignorum</i> (Lig.), <i>T. koningii</i> (Qudem) y <i>T. glaucum</i> (Abbott).
Gillman y Abbott	1927	Construyen una clave para identificar las especies de <i>Trichoderm</i> spp.
Beach	1937	Realiza el primer reporte de <i>Trichoderma</i> spp., y los síntomas que provoca como enfermedad del champiñón.
Bisby	1939	Al estudiar numerosas colecciones y cepas identificadas como <i>Trichoderma</i> spp., concluye que el género es monotípico (cuando un género se establece con una sola especie) y menciona que <i>Hypocrea gelatinosa</i> es en realidad <i>Trichoderma viride</i> (Pers.: S.F. Gray).
Rifai y Webster	1966	Demostraron que la nomenclatura de Bisby era errónea al examinar las diferencias entre <i>H. rufa</i> (Pers.), <i>H. aeuoviride</i> (Rifai), <i>H. vinosa</i> (Cooke), y otras especies de <i>Hypocrea</i> spp., no mencionadas.
Rifai	1969	Hace una revisión del género <i>Trichoderma</i> spp., ofrece una clave de identificación de 9 especies describiéndolas ampliamente. Actualmente es la clave más aceptada.

Autor	Fecha	Comentarios
Bissett	1984-1992	Realiza una amplia descripción de <i>T. atroviride</i> (Bissett), sugiriendo que la descripción original realizada por Karsten (1892) debe ser modificada y ampliada de acuerdo a las nuevas técnicas disponibles (la microscopía electrónica y la genética molecular).
Doyle, Seaby, Chen, Castle y Hermosa.	1991-2000	Diferenciaron cuatro formas biológicas de <i>T. harzianum</i> (Rifai), <i>Th1</i> , <i>Th2</i> , <i>Th3</i> y <i>Th4</i> .
Sobal, M.	2004	Identifica a <i>T. aggressivum</i> f. <i>aggressivum</i> (Samuels & W. Gams), en la planta de Hongos México.

realizó Hartz en 1871, quien enfatizó la importancia y las características microscópicas en la delimitación del género, especialmente por la presencia de fálides (Bissett, 1991; Chen *et. ál.*, 1999). En 1916 Waksman describió seis cepas de *Trichoderma* spp., de acuerdo a la apariencia macroscópica, el tamaño, y la forma de las fálides. Diez años después, Abbott en 1926 al estudiar siete aislamientos de *Trichoderma* spp., concluyó que son tres especies y fueron identificadas como *T. lignorum* (Harz), *T. koningii* (Qu-dem), y *Trichoderma glaucum* (Abbott). En 1969 Rifai realizó una revisión del género y describió 9 especies de *Trichoderma* spp., (Bisby, 1939; Rifal, 1969; Bissett, 1992).

A partir de la manifestación de *Trichoderma harzianum* (Rifai), como causante de las epidemias en plantas productoras de hongos comestibles en Norteamérica, Islas Británicas, India e Irlanda a principios de 1980, todas las investigaciones sobre este género se han dedicado a realizar pruebas de identificación basadas en las variaciones del polimorfismo del ADN ampliado al azar (*Random Amplified Polymorphic DNA* ó RAPD), utilizando técnicas de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (Bissett, 1992; Muthumeenakshi *et ál.*, 1994; Chen *et ál.*, 1999; Sharma *et ál.*, 1999).

Dentro del género *T. harzianum* (Rifai), se han diferenciado cuatro formas biológicas: *Th1*, *Th2*, *Th3* y *Th4* (Seaby, 1996; Chen, *et ál.*, 1999; Hermosa *et ál.*, 2000; Castle *et ál.*, 1998; Doyle, 1991). Esto es debido a que dentro de una especie, los principales criterios son el tamaño de la fálide, forma y distribución pero

éstos varían mucho en los agregados y entre las especies. Además, se complica porque en *T. harzianum* (Rifai), produce dos tipos de esporulación y las proporciones cambian de acuerdo al tiempo de incubación y las condiciones del cultivo (Rifai, 1969).

Fisiología de *Trichoderma harzianum* (Rifai).

A *T. harzianum* (Rifai), se le puede encontrar en diferentes materiales orgánicos y suelos, están adaptados a diferentes condiciones ambientales lo que facilita su amplia distribución. Algunas especies prefieren localidades secas y templadas y otras templadas y frías. Estos hongos son ampliamente conocidos por su producción de toxinas y antibióticos. Se encuentran diferentes especies y cepas de *T. harzianum* (Rifai), en el cultivo de hongos comestibles, algunas son inofensivas y otras muy dañinas, por lo que su relación antagónica con los hongos cultivados todavía no está completamente conocida y varía entre especies y cepas (Seaby, 1996).

En el estadio temprano de *T. harzianum* (Rifai), el color del micelio es blanco y eventualmente desarrolla un color verde oscuro después de la esporulación. Las colonias de *T. harzianum* (Rifai), crecen y maduran rápidamente a los cinco días de incubación en medio de cultivo agar de dextrosa y papa (PDA) a 25°C. Las especies de este género generalmente prefieren un pH ácido de 4.5-5 y, además se desarrolla en áreas con un excesivo contenido de humedad y un estancamiento del bióxido de carbono en la

atmósfera. Varios factores genéticos asexuales como la recombinación parasexual, mutación y otros procesos contribuyen a la variación entre los núcleos en un solo organismo (talo). Así, los hongos son altamente adaptables y evolucionan rápidamente. Hay una gran diversidad en genotipos y fenotipos de cepas silvestres (Rifai, 1969; Przybylowicz y Donoghue, 1988; Stamets y Chilton, 1983; Vijay y Sohi, 1989; Pandey y Tewari, 1990). El ciclo de vida de *T. harzianum* (Rifai), inicia cuando el organismo crece y se ramifica como una hifa fúngica típica que mide de 5-10 μ de diámetro. La esporulación asexual ocurre cuando las esporas de 3-5 μ de diámetro son liberadas en un gran número. También se forman clamidospora intercaladas, de forma individual, aunque a veces dos o más clamidosporas se pueden fusionar. Como ya mencionamos anteriormente, dentro del género *T. harzianum* (Rifai), se diferenciaron cuatro biotipos (Th1, Th2, Th3 y Th4), que afectan al cultivo de hongos comestibles. Estos biotipos fueron diferenciados por el porcentaje del crecimiento micelial y la apariencia de la colonia, también por las características morfológicas a nivel microscópico, incluyendo las fialides y fialósporas. Th2 y Th4 son los biotipos más incidentes y altamente virulentos en las plantas de hongos comestibles, y los biotipos Th1 y Th3 pueden infestar la composta del hongo pero raras veces causan pérdidas (Seaby, 1987; Seaby, 1996; Doyle, 1991; y Rifai, 1969).

El tamaño de los conidióforos es de 62,5-69 x 3-4,7 μ m. Los conidióforos son de color verde, presentan diversas ramificaciones perpendiculares, en algunos casos se observa la formación de ramas laterales en grupos de dos a tres, ubicadas en un ángulo amplio. El sistema de ramificación tiene una apariencia piramidal (**Fig. 1- a, b**). Las fialides son largas y delgadas, solitarias a lo largo del eje, asimétricas, con un tamaño de 6,3-15,6 x 2,7-3,4 μ m., con verticilos terminales de hasta 4 conidios de un tamaño aproximado de 3,8-4 x 3,1-3,7 μ m, con forma citriforme y subglobosos (**Fig. 1- c, d**). Sus Clamidosporas son intercalares y formadas por el micelio sumergido, subglobosas, de pa-

red dentada, color verde suave y un tamaño de 12,5-10 μ m. (Bissett, 1991; Hoog, 2000).

Estructuras y Características de *T. harzianum* (Rifai), en el cultivo de hongos comestibles

Algunas especies de *Trichoderma* spp., actúan como patógenas y otras como competidores del cultivo de hongos comestibles, de acuerdo a Fletcher en 1986, las especies encontradas en el cultivo de champiñón son: *T. viride* (Pers.: S.F. Gray), competidor, *T. koningii* (Qudem), patógeno, y *T. harzianum* (Rifai), patógeno. Entre las especies citadas en sustrato de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm, se encuentran: *T. viride* (Pers.: S.F. Gray), *T. harzianum* (Rifai), *T. hamatum* (Bonord: Bainier) y *T. pseudokoningii* (Rifai). Recientemente, se ha encontrado la subespecie Th4 de *T. harzianum* (Rifai), las cuales han originado pérdidas superiores al 77% durante la producción de las cosechas de *Pleurotus* spp. Esta subespecie es la causante de la epidemia de *Trichoderma* spp., aparecida en los cultivos de champiñón de Norteamérica (Seaby, 1987; Seaby, 1996; Doyle, 1991 y Rifai, 1969).

T. harzianum (Rifai), invade rápidamente el sustrato y obstaculiza el crecimiento del micelio de *Pleurotus* spp., mediante la producción de toxinas y antibióticos, al tiempo que ocasiona un descenso del nivel de pH hasta valores de 4-5, que son más favorables para su desarrollo. Inicialmente se puede observar en el sustrato un moho de color blanco que vira a verde, adquiriendo posteriormente color gris verde-azulado debido a la abundante producción de conidios. Los propágulos (conidios, clamidosporas o fragmentos de micelio) pueden ser esparcidos por corrientes de aire, aerosoles, insectos, ácaros, herramientas, ropas, etc. (Seaby, 1996).

La infección del sustrato tiene lugar generalmente en el curso de las operaciones de siembra y embolsado, sobre todo cuando no se siguen escrupulosas normas de higiene. Los

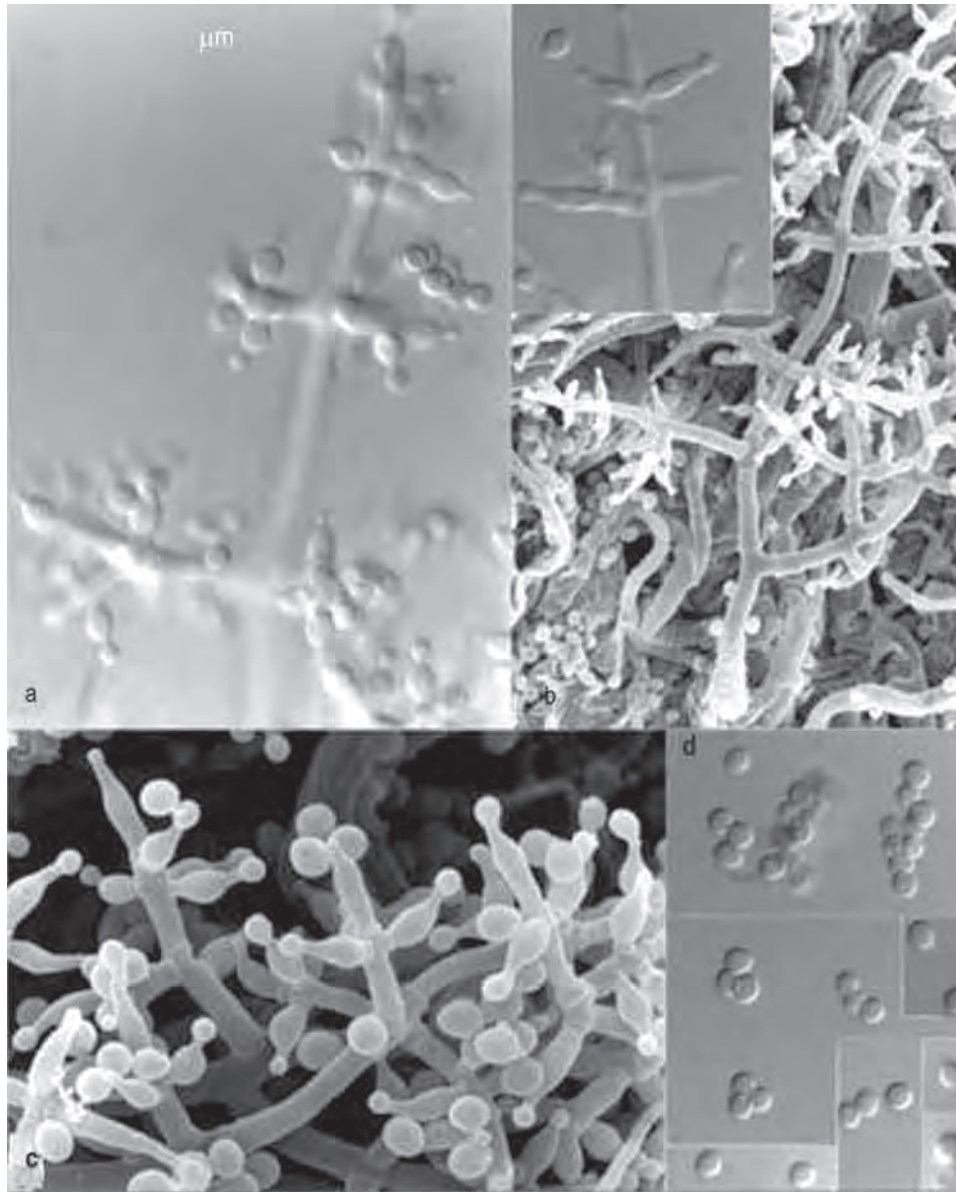


Figura 1. Descripción: *T. barzjanum* (Rifai); a, b. conidióforos de forma piramidal; c, d. filídes y conidios.
Resolución. a, d. x1600; b. x1300; c. x3300

daños son proporcionales al número de sacos afectados y a la precocidad de la infección. Si la infección es temprana, el patógeno se multiplica rápidamente y coloniza una mayor cantidad de sustrato, lo que supone una severa reducción de la cosecha (Fletcher, 1986).

Por el contrario, con infecciones más tardías y ante un micelio de *Pleurotus* spp., vigoroso, el hongo verde se manifiesta en la in-

cubación y durante la primera cosecha, aunque puede aparecer también en el inoculo o “semilla”. Hay que tener en cuenta que los procesos de infección se pueden ver afectados por la temperatura interna del sustrato, ya que se ha observado una correlación directa entre el desarrollo temprano de *T. barzjanum* (Rifai) y una temperatura excesiva durante la incubación que debilita al micelio de *Pleurotus* spp., (Doyle,

1991). Además, *T. barzianum* (Rifai), produce enzimas hidrolíticas que degradan componentes de la pared celular de muchos microorganismos, que luego pueden ser utilizados como fuente de nutrientes. Recientemente, los biotipos de *T. barzianum* (Rifai), descritos por Rifai originalmente fueron aislados en plantas comerciales de champiñón (*Agaricus bisporu* J.E. Langes). El biotipo agresivo en Norte América fue originalmente conocido como “Th4”, pero ha sido recientemente cambiado de nombre de *Trichoderma aggressivum* f. *aggressivum* (Samuels & W. Gams). En cambio, biotipos de *T. barzianum* (Rifai) “no agresivos” se encuentran comúnmente en las granjas de setas. El mecanismo de establecimiento de la enfermedad es desconocida (Oliver, *et ál.*, 2003).

En 2004, un grupo de investigación del Colegio de Postgraduados detectó la presencia de cepas agresivas micoparásitas de *T. aggressivum* f. *aggressivum* (Samuels & W. Gams), identificada con técnicas clásicas y moleculares, usando la técnica ITS 1 y ITS 4 en muestras de sustrato (compost) contaminado proporcionado por la principal planta de Hongos de México, S.A. Esta empresa, cuyos volúmenes de producción ascienden a 55 toneladas de champiñones por día, ha llegado a tener disminuciones hasta del 50% en su producción y pérdidas económicas millonarias debido al ataque de *T. aggressivum* f. *aggressivum* (Samuels & W. Gams). Actualmente, dicha cepa está depositada en el Cepario de Hongos Comestibles del Centro de Recursos Genéticos del Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla (Bonilla-Quintero, 2006; Sobal, 2007).

Conclusión

T. barzianum (Rifai), es un hongo que se ha venido estudiando desde principios del siglo pasado y se ha avanzado en el conocimiento de su morfología, diversidad patogénica y comportamiento en asociación al cultivo de hongos comestibles, a la fecha todavía hay dificultad de su manejo y clasificación, aun se desconoce mucho de su fisiología y de los factores asocia-

dos a la virulencia en plantas productoras en México, así como los mecanismos asociados a la resistencia por parte de los hongos comestibles.

Es relevante continuar con estudios que permitan un mayor conocimiento de este patógeno dada la importancia económica que representa el cultivo de hongos comestibles en países en vía de desarrollo, el cual se presenta como una alternativa económica para las zonas rurales del país debido a que la producción de hongos comestibles permite obtener grandes producciones en relativamente poco espacio, tiene una amplia capacidad de aceptación a nivel urbano y rural por sus propiedades alimenticias y nutricionales, utiliza racionalmente los subproductos agrícolas que se generan en la región, el sustrato es reciclando para ser utilizado como abono orgánico; además, arraiga la fuerza de mano de obra en sus propias localidades.

En los últimos años la biotecnología de producción de hongos comestibles ha tenido una importancia relevante en la alimentación en el medio rural mexicano, el desarrollo reciente de técnicas en biología molecular se muestra como una herramienta sólida para la generación rápida de conocimiento no solamente del parásito, también de su hospedero así como la interacción entre ambos que permitiría un manejo, prevención y control del principal agente contaminante del cultivo de hongos comestibles.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Porfirio Morales Almora, su apoyo técnico en diferentes etapas del trabajo de investigación durante el curso “Los hongos y su contribución al desarrollo”. Este trabajo fue realizado gracias al apoyo financiero de las autoridades del Conacyt.

Referencias bibliográficas

- Bisby, G. R. 1939. *Trichoderma viride* Pers. ex Fries, and notes on *Hypocrea*. *Transactions of the British Mycological Society* 23: 149-168.

- Bissett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma* spp., Infrageneric classification. *Canadian Journal of Botany*, 69: 2357-2372.
- Bissett, J. 1992. *Trichoderma atroviride*. *Canadian Journal of Botany*, 70: 639-641.
- Bonilla-Quintero, M. 2006. Innovación tecnológica para controlar el "Moho verde" (*Trichoderma* spp.) durante el cultivo de hongos comestibles en la región central de México. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Campus-Puebla.
- Castle, A. D., Speranzini, N., Rghei, G., Alm, D., Rinker and J. Bissett. 1998. Morphological and Molecular Identification of *Trichoderma* Isolates on North American Mushroom Farms, *Applied Environ Microbiol* 64(1): 133-137.
- Chen, X., C. P. Romaine, M. D. Ospina-Giraldo y D. J. Royle. 1999. A polymerase chain reaction-based test for the identification of *Trichoderma harzianum* biotypes 2 and 4, responsible for the worldwide green mould epidemic in cultivated *Agaricus bisporus*. *Applied Microbiol Biotechnol*. 51: 572-578.
- Domsch, K. H., W. Gams and T. Anderson. 1993. *Compendium of soil fungi*. IHV-Verlag, 859 Pp.
- Doyle, O. 1991. *Trichoderma* green mould. *The Irish Mushroom Review* 3: 13-17.
- Fletcher, J. T. 1987. Weed moulds. *The Mushroom Journal* 174: 198-200.
- Fletcher, J. T., P. F. White and R. H. Gaze. 1986. Champiñones: control de las enfermedades y plagas. Acribia S.A. Zaragoza, España. 159 pp.
- Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton y D.N. Pegler. 1995. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi. Eighth edition. CAB International. University Press, Cambridge. 616 pp.
- Hermosa, M. R., E. A. Iturriaga; J. M., Díaz-Minguez, C. Castro, E. Monte and J. M. García Acha. 2000. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 1890-1898.
- Hidalgo A. 1989. Comparación de dos métodos para la selección de aislamientos de *Trichoderma* para el combate biológico de *Fusarium* y *Rhizoctonia* en clavel. Tesis para optar por el grado de Licenciado en Agronomía. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 89 pp.
- Hoog, G.S.; Guarro, J.; Gene, J. and Figueras, M.J. 2000. atlas de hongos clínicos, 2 a ed. Ed. CBS Utrece y the Netherland 2: 1-1126
- Klein D, Eveleigh DE. 1998. Ecology of *Trichoderma*. In: Kubicek CP, Harman GE, eds. *Trichoderma and Gliocladium. Basic biology, taxonomy and genetics*. London, UK: p 57-74.
- Muthumeenakshi, S., P. R. Milis, A. E. Brown and D. A. Sea by. 1994. Intraspecific molecular variation among *Trichoderma harzianum* isolates colonizing mushroom compost in the British Isles. *Microbiology* 140: 769-777.
- Oliver A. K., Alan J. C., and Danny Lee R. 2003. The North American mushroom competitor, *Trichoderma aggressivum* f. *aggressivum*, produces antifungal compounds in mushroom compost that inhibit mycelial growth of the commercial mushroom *Agaricus bisporus*. *Mycological Research* Volume 107, Issue 12, Pp.1467-1475
- Pandey, M. and R. P. Tewari. 1990. Antagonism of *Pleurotus sajor-caju* by some weed fungi. *Mushroom Journal for the Tropics* 10 (2): 52-58.
- Przybylowicz, P. and S. Donoghue. 1988. Shiitake growers handbook. *The art and science of mushroom cultivation*. Kendall, Dubuque.
- Rifai. M. A 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers*, 116: 1156.
- Rossmann, A. 1996. Morphological and molecular perspectives on systematics of the Hypocreales. *Mycologia* 88(1): 1-19.
- Samuels, 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycological Research*. 100: 923-935.
- Seaby, D. A 1987. Infection of mushroom compost by *Trichoderma* species. *The Mushroom Journal* 179: 355-361.
- Seaby, D. A 1996. Investigation of the epidemiology of green mould of mushroom (*Agaricus bisporus*) compost caused by *Trichoderma harzianum*. *Plant Pathology* 45: 913-923.
- Sharma, H. S., M. Kilpatrick, F. Ward, G. Lyons and L. Burns. 1999. Colonization on phase II compost by biotypes of *Trichoderma harzianum* and their effect on mushroom yield and quality. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51: 572-578.
- Sobal, M., P. Morales, M. Bonilla, G. Huerta y D. Martínez-Carrera. 2007. El Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) del Colegio de Postgraduados. Capítulo 2.1, 14 pp. In: El Cultivo de Setas *Pleurotus* spp. En México. J. E. Sánchez, D. Martínez-Carrera, G. Mata & H. Leal

(Eds.). ECOSUR-CONACYT, México, D.F. ISBN 978-970-9712-40-7

Stamets, P. and J. S. Chilton. 1983. The mushroom Cultivador. A practical guide to growing mushroom at home. Agarikon Press, Olimpia, Washington. Pp. 415

Vijay, B. and H. S. Sohi. 1989. Fungal competitors of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. *Mushroom Journal for the Tropics* 9: 29-36.