

# EFFECTO DE DOS ENMIENDAS ORGÁNICAS Y *Trichoderma* spp. PARA CONTROLAR *Sclerotinia* spp. EN LECHUGA

M. A. Osorio-Nila<sup>1</sup>; L. M. Vázquez-García<sup>2</sup>; M. L. Salgado-Siclán<sup>2</sup>; C. E. González-Esquivel<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de México. a/c CGIEA Instituto Literario Oriente #100, Toluca, Estado de México, 50000. MÉXICO. Correo-e: cge1@uaemex.mx (\*Autor responsable).

<sup>2</sup>Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. a/c CGIEA Instituto Literario Oriente #100, Toluca, Estado de México, 50000. MÉXICO.

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de la materia orgánica contenida en un biosólido y estiércol de pollo, sobre el establecimiento y desempeño de *Trichoderma* spp., empleados como agentes de biocontrol de *Sclerotinia* spp., en lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. Buba). La dinámica poblacional de *Trichoderma* spp. fue determinada mediante el método de conteo en placas de Papa-Dextrosa-Agar de las unidades formadoras de colonias, y su eficiencia de control, mediante evaluación visual del grado de daño por *Sclerotinia* spp. Las diferencias estadísticas observadas en la dinámica poblacional de *Trichoderma* spp. fueron debidas a la influencia de la fuente de materia orgánica empleada, de modo que *T. lignorum* fue capaz de aprovechar la materia orgánica contenida en el biosólido y la materia orgánica *in situ*. Tanto el biosólido como el estiércol de pollo fueron poco eficientes para fomentar el crecimiento poblacional de la especie nativa de *Trichoderma*. El daño causado por *Sclerotinia* spp. fue estadísticamente similar en todos los tratamientos y menor al 25 %, por lo que se logró comprobar la eficacia de *T. lignorum* y *T. harzianum* para controlar al patógeno.

**PALABRAS CLAVE ADICIONALES:** *Lactuca sativa* L., biocontrol, biosólido, pollinaza, *Trichoderma lignorum*, *Trichoderma harzianum*.

## EFFECT OF TWO ORGANIC AMENDMENTS AND *Trichoderma* spp. TO CONTROL *Sclerotinia* spp. IN LETTUCE

## ABSTRACT

The effect of organic matter contained in a biosolid and chicken poultry was evaluated on the development of *Trichoderma* spp. used as biocontrol agent against *Sclerotinia* spp. in lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Buba). Population dynamics of *Trichoderma* spp. was evaluated by means of Potato-Dextrose-Agar (PDA) plates account of colony forming units, and its efficiency to control the disease by visual evaluation of the degree of crop damage by *Sclerotinia* spp. Statistically significant differences observed in population dynamics of *Trichoderma* spp. were attributed to the influence of the organic matter source. The biocontrol agent *Trichoderma lignorum* was able to use the organic matter of the biosolid and *in situ* organic matter. Poultry manure and the biosolid were not efficient enough to promote population growth of native *Trichoderma* species. The damage caused by *Sclerotinia* spp. Was statistically similar in all treatments and less than 25 %, so that the efficiency of *T. lignorum* and *T. harzianum* to control the pathogen was proved.

**ADDITIONAL KEY WORDS:** *Lactuca sativa* L., Organic admendments, biocontrol agent, *Trichoderma lignorum*, *Trichoderma harzianum*.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, ha cambiado la forma de concebir al agroecosistema, enfocándose hacia el estudio de los diversos subsistemas que lo componen; en el caso del patosistema del suelo, esta visión se ha dirigido hacia la comprensión de las relaciones patógeno-hospedero-microbiota (García, 1996). Dentro de esta concepción varios científicos se encuentran de común acuerdo en la incorporación y fortalecimiento de diversas estrategias que

de manera natural ocurren en diversos ecosistemas a los sistemas de producción agrícola (Pretty, 1995; Altieri, 1999).

Algunos de los mecanismos encargados de mantener la homeostasis del sistema incluyen relaciones de parasitismo, competencia y predación, entre otros; este hecho es usual en comunidades con una alta biodiversidad (Alexander, 1971; Boer *et al.*, 2003). El conocimiento de tales relaciones ecológicas ha implicado la búsqueda y

evaluación de diversos microorganismos del suelo (hongos, bacterias y nemátodos), cuyas estrategias de sobrevivencia les permiten controlar ciertas enfermedades radicales en cultivos hortícolas de importancia económica (Handelsman y Stabb, 1996; Koch, 1999; Avila y Gutiérrez, 2000; Budge y Whipps, 2001; Whipps, 2001).

La incorporación al agroecosistema de abonos orgánicos provenientes de diferentes materiales vegetales y animales ha demostrado tener ciertos efectos supresivos hacia algunas enfermedades, debido a que contienen poblaciones microbianas (Chung *et al.*, 1988; Craft y Nelson, 1996; Hoitink *et al.*, 1997; Hoitink y Bohem, 1999; Bulluck III *et al.*, 2002).

Resultados satisfactorios se han obtenido en el control de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum* y *Sclerotinia sclerotiorum*, mediante el uso de agentes de control biológico como *Trichoderma harzianum* y *Pseudomonas fluorescens*, o al agregar enmiendas orgánicas al suelo. Desafortunadamente, esos éxitos han sido opacados por un cúmulo de fracasos en este campo (Craft y Nelson, 1996; Budge y Whipps, 2001; Lewis y Lumsden, 2001; Cotxaterra *et al.*, 2002).

De los trabajos revisados para esta investigación, resalta el hecho que éstos se han llevado a cabo empleando únicamente enmiendas orgánicas o agentes de control biológico, en experimentos de laboratorio o bajo condiciones de invernadero, pero no se han realizado en condiciones de campo y empleando ambos factores juntos.

En este trabajo se cuantificó la dinámica poblacional y el nivel de control desplegado por *Trichoderma lignorum* y especies autóctonas de *Trichoderma*, sobre el fitopatógeno *Sclerotinia* spp., en un cultivo de lechuga cv. Buba, al incorporar a un suelo orgánico dos enmiendas con diferente contenido de materia orgánica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Experimento en campo

El experimento se realizó durante el ciclo primavera-verano del 2003, en el municipio de Tenango del Valle, Estado de México (18° 59' 07" a 19° 08' 29" de latitud Norte; 99° 31' 37" a 99° 45' 00" de Longitud Este); en un suelo franco-arcilloso, con 6.86 % de materia orgánica y pH de 6.6; sometido a cultivo continuo de hortalizas y con aportes periódicos de materia orgánica, infectado naturalmente con esclerocios de *Sclerotinia* spp.

Se utilizó el cv. Buba de lechuga del tipo de las romanas, germinada bajo condiciones de invernadero, en charolas de poliestireno de 380 cavidades y empleando como sustrato de enraizamiento "peat-moss". La emergencia de las plántulas se presentó a los 8 días después de la

siembra, permaneciendo en el invernadero por espacio de 22 días más, para finalmente ser llevadas a campo.

Se empleó un diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas, con cinco repeticiones. La unidad experimental estuvo formada por cuatro surcos de 5.0 m de longitud espaciados a 0.80 m. En cada surco se colocaron 17 plantas, con una separación de 0.30 m entre éstas.

En las parcelas principales se aplicaron los tratamientos con las fuentes de materia orgánica, consistentes en 10 t·ha<sup>-1</sup> en base húmeda de un biosólido proveniente de la elaboración de levaduras para panificación y un contenido de 70 % de materia orgánica, aplicando 4.0 kg por surco; y 4 t·ha<sup>-1</sup> de estiércol de pollo (pollinaza) con un contenido de 18 % de materia orgánica, depositando por surco 1.6 kg, además de un testigo constituido por la materia orgánica presente en el suelo o *in situ*. Las aplicaciones de las enmiendas orgánicas fueron realizadas en banda una semana antes del trasplante, distribuyendo de manera uniforme el material.

En las parcelas menores se incluyó el agente de control biológico. Se utilizó un polvo humectable comercial cuyo ingrediente activo son conidias de *Trichoderma lignorum*; inoculado a razón de 2.5 x 10<sup>4</sup> conidias por planta, mediante la técnica de "drench" en la tercera semana de crecimiento en invernadero. Para ello se diluyeron 1.25 gramos del polvo por litro de agua destilada estéril, llenando una tina de plástico con 5 litros de la solución y sumergiendo cada charola de poliestireno durante diez minutos.

La combinación de estos dos factores generó seis tratamientos: biosólido + *T. lignorum* (biosólido inoculado), biosólido sin inoculación, pollinaza + *T. lignorum* (pollinaza inoculada), pollinaza sin inoculación, materia orgánica *in situ* + *T. lignorum* (testigo inoculado) y materia orgánica *in situ* sin inoculación (testigo absoluto).

Para determinar la dinámica poblacional de *Trichoderma* spp. fueron realizados cuatro muestreos: 10 días antes del trasplante, y a los 30, 60 y 90 días después del trasplante. Las muestras se tomaron del perfil del suelo (0-15 cm de profundidad) aledaño a la base de tres plantas de lechuga, formando con ellas una muestra compuesta de 0.9 kg para cada tratamiento, que fue enviada el mismo día del muestreo al laboratorio para su siembra en medio Papa-Dextrosa Agar (PDA).

Para evaluar la severidad del ataque del *Sclerotinia* spp. en el cultivo de lechuga, y así inferir la eficiencia del control desplegado por *Trichoderma* spp., se dio seguimiento semanal desde el trasplante y hasta el final del ciclo de cultivo la sintomatología mostrada por el cultivo, de acuerdo a la escala visual siguiente: 0 = Planta sana; 1 = <25 % del área foliar afectada; 2 = <50 % del área foliar

afectada; 3 = <75 % del área foliar afectada; 4 = <100 % del área foliar afectada; y, 5 = planta muerta (Craft y Nelson, 1996). El análisis de varianza del nivel de daño en el cultivo se realizó empleando la prueba de Friedman (Steel y Torrie, 1972) en bloques completos al azar, con un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ .

### Aislamiento en laboratorio

El aislamiento de *Trichoderma* spp. se llevó a cabo en cajas petri, a las que se les agregó 20 ml de medio PDA, haciendo diluciones sucesivas hasta alcanzar una concentración de  $10^{-3}$  (Johnson y Curl, 1972; Merriman, 1976). De ésta se tomaron 0.2 ml con una pipeta volumétrica, y se distribuyeron en forma uniforme sobre la superficie de una placa de medio PDA solidificado. La incubación de éstas duró 7 días a temperatura de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , en la oscuridad. El conteo de las colonias de *Trichoderma* spp. se realizó con ayuda de un microscopio estereoscópico a 60x y un contador de colonias manual. Se obtuvo así el número de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco (ufc·g<sup>-1</sup>), que fue transformado a su forma logarítmica, mediante la ecuación  $\text{Log}(X + 1)$  (Steel y Torrie, 1972), para realizar un análisis de varianza de la dinámica poblacional de *Trichoderma* spp. a los 30, 60 y 90 días después del trasplante.

Se empleó el modelo para parcelas divididas en espacio y tiempo, el cual es una variante del modelo para parcelas subdivididas, utilizado para realizar comparaciones entre tratamientos con respecto al tiempo (Steel y Torrie, 1972). El análisis de varianza para el crecimiento poblacional de los diferentes tratamientos fue realizado empleando el modelo para parcelas divididas. En ambos casos la separación de medias fue calculada mediante la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS

A los 30 días después del trasplante se encontró en el testigo absoluto una especie de *Trichoderma*, procediéndose a su identificación taxonómica, quedando clasificada como *Trichoderma harzianum*.

En los tratamientos inoculados, el crecimiento poblacional de *Trichoderma lignorum* fue favorecido significativamente por la adición del biosólido en los primeros 30 días posteriores al trasplante, pero este efecto disminuyó al final del experimento, resultando estadísticamente igual al resto de los tratamientos en los muestreos realizados a los 60 y 90 días (Figura 1). La dinámica poblacional se mantuvo constante y estadísticamente similar a los 30 y 60 días después del trasplante (Cuadro 1). Por otra parte, el biosólido no pareció representar una fuente alterna de materia orgánica para *Trichoderma harzianum*, dado que su crecimiento

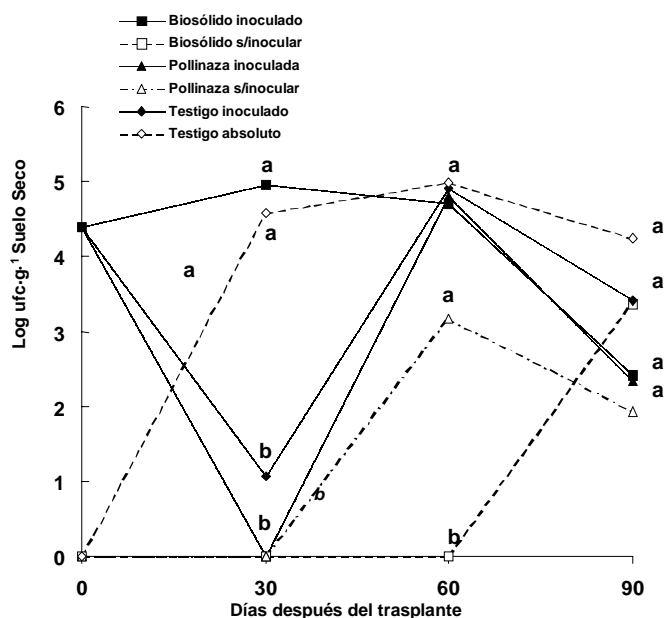


FIGURA 1. Crecimiento poblacional de *Trichoderma* spp. a 30, 60 y 90 días después del trasplante. Puntos con la misma letra en la misma fecha de muestreo no son estadísticamente diferentes a una  $P \leq 0.05$ .

CUADRO 1. Dinámica poblacional (Log ufc g<sup>-1</sup> suelo seco) de *Trichoderma* spp. en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.).

Tratamiento	Días después del trasplante <sup>2</sup>			
	-10	30	60	90
Biosólido inoculado	4.44	4.96 a	4.71 a	2.42 b
Biosólido sin inocular	0	0 b	0 b	3.38 a
Pollinaza inoculada	4.44	0 c	4.80 a	2.33 b
Pollinaza sin inocular	0	0 b	3.18 a	1.93 a
Testigo inoculado	4.44	1.07 b	4.91 a	3.41 a
Testigo absoluto	0	4.58 a	4.98 a	4.25 a
Error estándar		1.53		
C.V.		39.18 %		

<sup>2</sup>Renglones con la misma letra no son estadísticamente diferentes a  $P \leq 0.05$ .

poblacional se manifestó hasta el final del experimento.

Para los tratamientos en donde se empleó la pollinaza, el crecimiento poblacional de *Trichoderma* spp. se manifestó hacia los 60 días posteriores al trasplante. Para el tratamiento en donde se inoculó al agente de biocontrol no se detectó a los 30 días la presencia de *Trichoderma*, pero a los 60 días se produjo un crecimiento notable, probablemente debido a la especie nativa. En el tratamiento de la pollinaza inoculada, se presentó una respuesta del crecimiento poblacional, probablemente debido a *T. harzianum*, hasta los 60 días. Sin embargo, a los 90 días se produjo un decrecimiento en su población (Figura 1).

Los tratamientos que recibieron la pollinaza como fuente de materia orgánica presentaron diferencias estadísticas en su dinámica poblacional (Cuadro 1).

En los tratamientos donde no se aplicó materia orgánica, se observó una dinámica favorable para *Trichoderma* spp. (Cuadro 1). En el caso del testigo inoculado se observó claramente una disminución del crecimiento poblacional de *Trichoderma lignorum* a los 30 días, sin llegar a 0 ufc·g<sup>-1</sup>; posteriormente se presentó una recuperación en el crecimiento poblacional (Cuadro 1). El testigo absoluto mantuvo un comportamiento bien definido en cuanto al crecimiento poblacional de *Trichoderma harzianum*, manteniéndose de manera sostenida desde el inicio del experimento, significativamente mayor que su contraparte inoculada y estadísticamente igual a los 30 días que el tratamiento del biosólido inoculado, alcanzando su punto álgido a los 60 días para finalmente decaer a los 90 días, finalizando con una población superior a los demás tratamientos, aun y cuando las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Figura 1).

El crecimiento poblacional presentado por *Trichoderma* spp. respecto a la fuente de materia orgánica incorporada fue variable; hacia los 30 días después del trasplante tanto el biosólido como la materia orgánica *in situ* presentaron un crecimiento poblacional igual, mayor que el presentado por la pollinaza. A los 60 y 90 días posteriores al trasplante el crecimiento poblacional se mantuvo estadísticamente igual independientemente de la fuente de materia orgánica adicionada al suelo (Figura 2).

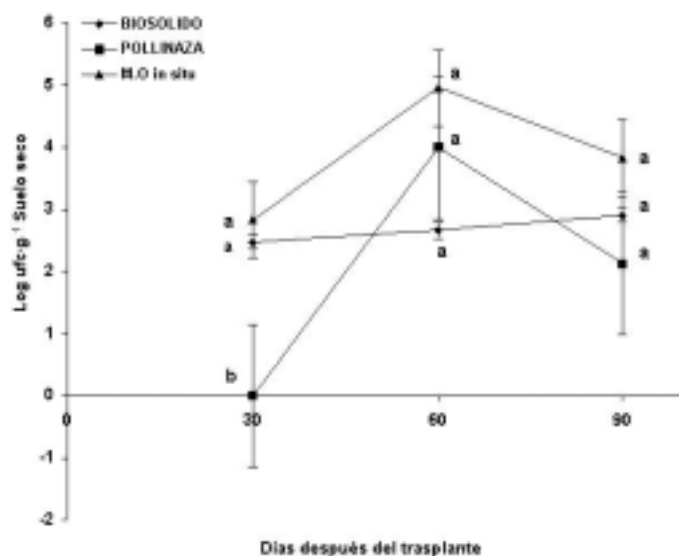


FIGURA 2. Crecimiento poblacional de *Trichoderma* spp con respecto a la fuente de materia orgánica empleada. Puntos con la misma letra en la misma fecha de muestreo no son estadísticamente diferentes a una  $P \leq 0.05$ .

La sintomatología debida al ataque de *Sclerotinia* spp. se presentó en las últimas tres semanas del experimento (10<sup>a</sup> a 12<sup>a</sup> semanas), etapa en que se apreciaron síntomas visibles sobre las hojas del cultivo, haciéndose notorios principalmente en el tratamiento de la pollinaza sin inocular en la décima semana posterior al trasplante. En la onceava semana la pollinaza sin inocular presentó un valor cercano a 0.2 en la escala visual empleada. Los tratamientos que fueron inoculados presentaron una sintomatología ligeramente menor a la expresada por los tratamientos en donde no se inoculó *Trichoderma lignorum* (Figura 3). Finalmente, en la doceava semana posterior al trasplante el testigo absoluto fue quien presentó un mayor daño, alcanzando un valor cercano a 1.2 en la escala visual; en este último punto de muestreo los tratamientos inoculados presentaron un valor inferior en la escala visual, con excepción del biosólido sin inocular. La prueba de Friedman demostró que todos los tratamientos fueron estadísticamente iguales para este periodo de tres semanas (Figura 3). En todos los casos, el daño no fue severo, obteniéndose un producto con calidad comercial.

## DISCUSIÓN

El hecho de que en el muestreo previo al trasplante no se detectara la presencia de *Trichoderma harzianum*, puede deberse a que este hongo necesita de una molécula vegetal inductora, como se ha demostrado en otros trabajos relacionados con la biología de este género (Whipps, 2001),

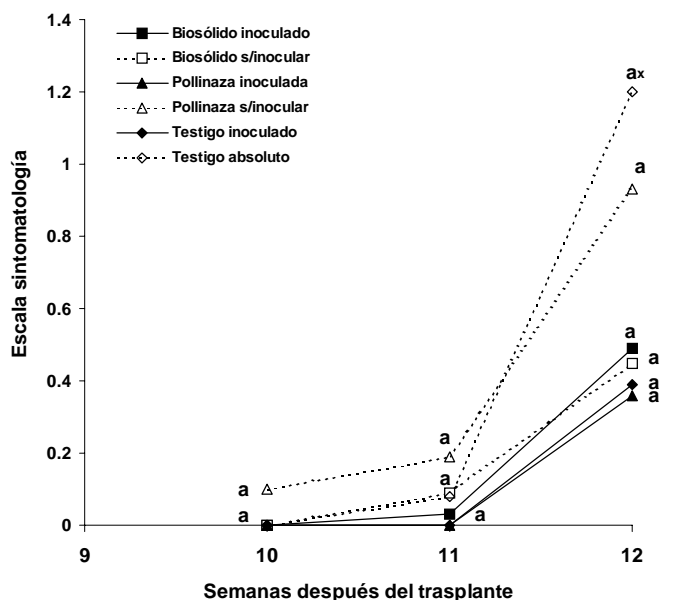


FIGURA 3. Sintomatología presentada por el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). 0 = Planta sana; 1 = < 25 % del área foliar afectada; 2 = < 50 % del área foliar afectada; 3 = < 75 % del área foliar afectada; 4 = < 100 % del área foliar afectada; y, 5 = planta muerta. Puntos con la misma letra en la misma fecha de muestreo no son estadísticamente diferentes a una  $P \leq 0.05$ . \* Error estándar mediante la prueba de Friedman = 3.79.



razón por la cual los tratamientos no inoculados aparecen con 0 ufc·g<sup>-1</sup> de suelo seco (Cuadro 1).

Las diferencias estadísticas encontradas entre los diferentes tratamientos en el desarrollo poblacional para ambas especies de *Trichoderma*, pueden ser atribuibles a la introducción de una fuente alterna de materia orgánica, que proporciona un nicho ecológico de fácil colonización para diferentes especies y géneros de microorganismos, entre ellos hongos saprobios como *T. lignorum* y *T. harzianum* (Figura 2). *T. lignorum*, al igual que otros organismos autóctonos empleados como agentes de control biológico, necesita una fuente disponible de carbono para sobrevivir hasta que sus reservas energéticas se agoten (Alexander, 1971; Hoitink y Boehm, 1999; Bulluck III *et al.*, 2002). Por lo tanto, el biosólido representó una fuente alternativa de carbono, asimilado rápidamente por *T. lignorum* (Figura 1).

No todas las enmiendas orgánicas adicionadas al suelo contienen un sustrato que pueda ser inmediatamente colonizable en primera instancia por *T. lignorum* en presencia de otros microorganismos del suelo, como sucedió con la pollinaza. El hecho de que éste organismo autóctono se haya establecido en el suelo evidenció que la materia orgánica contenida en el biosólido pudo ser utilizada de inmediato por *Trichoderma* spp. (Craft y Nelson, 1996; Avila y Gutiérrez, 2000; Bruggen y Semenov, 2000; Bulluck III *et al.*, 2002; Boer *et al.*, 2003). En base a los resultados obtenidos en el muestreo realizado a los 30 días posteriores al trasplante se infiere que la materia orgánica contenida en la pollinaza no pudo ser utilizada de inmediato por *Trichoderma*.

Por otra parte, en los tratamientos donde únicamente se adicionó biosólido o pollinaza, sin inocular *T. lignorum*, el crecimiento poblacional de *Trichoderma* spp. es lento, manifestándose hacia la mitad y al final del ciclo de cultivo de la lechuga. Es posible que la materia orgánica contenida en la pollinaza favoreciera el crecimiento poblacional de otros hongos saprobios como los hallados en las placas de PDA (*Penicillium* spp. *Fusarium* spp. y *Pithyium* spp. entre otros), impidiéndole a *T. lignorum* colonizar este sustrato en presencia de otros hongos saprobios, mientras que *T. harzianum* quizás debió esperar a que los saprobios agotaran las fuentes de carbono disponibles para ellos en el biosólido y la pollinaza, produciéndose de esa forma nuevas moléculas orgánicas aprovechables por la especie nativa de *Trichoderma*, dando lugar a una sucesión ecológica (Alexander, 1971; Chung *et al.*, 1988; Hoitink *et al.*, 1997; Bulluck III *et al.*, 2002; Cotxaterra, *et al.*, 2002; Ji y Wilson, 2002).

La severidad del ataque no fue grande (poco más del 25 % del área foliar para el testigo absoluto de acuerdo a la escala visual) posiblemente debido a las condiciones de humedad prevaletentes a lo largo del experimento, en

donde sólo al final del ciclo de cultivo se alcanzaron los niveles de humedad ambiental propicios para el desarrollo del fitopatógeno *Sclerotinia* spp. (Merriman, 1976; Chung *et al.*, 1988; Craft y Nelson, 1996; Budge y Whipps, 2001; Bulluck III *et al.*, 2002).

Comparativamente, el nivel de daño presentado en los tratamientos inoculados fue estadísticamente igual al exhibido en los tratamientos no inoculados, por lo que podríamos decir que el control desarrollado por *Trichoderma lignorum* hacia *Sclerotinia* spp. fue tan eficiente como el presentado por la especie nativa (Figura 3).

## CONCLUSIONES

La materia orgánica contenida en el biosólido obtenido de la elaboración de levaduras para panificación, resultó ser una buena fuente alternativa de carbono para el agente de control biológico *Trichoderma lignorum*, lo que pudo contribuir a mejorar su establecimiento en el suelo; en tanto que la pollinaza debió sufrir una transformación físicoquímica por las diferentes poblaciones microbiológicas del suelo, antes de poder ser empleada por este género de hongos. El alto contenido de materia orgánica *in situ* al parecer favoreció el establecimiento de *Trichoderma lignorum* y el crecimiento poblacional de *T. Harzianum*.

El establecimiento en el suelo del agente de control biológico autóctono resultó relevante para lograr un buen control de la enfermedad conocida como "pudrición blanca" en el cultivo de lechuga, ocasionada por el ataque del hongo fitopatógeno *Sclerotinia* spp.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Ing. Fernando Cantú, Ing. Luis Lepine e Ing. Plácido Sosa quienes proporcionaron el inóculo comercial y el biosólido; así como al M. en F. Jesús Aquino por su ayuda en el trabajo de taxonomía y laboratorio.

## LITERATURA CITADA

- ALEXANDER, M. 1971. Microbial Ecology. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA. 511 p.
- ALTIERI, M. A. 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agriculture, Ecosystems and Environment 74: 19-31.
- AVILA, De M. C.; GUTIÉRREZ, A. 2000. Biocontrol de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary en lechuga (*Lactuca sativa* L.). Fitopatología Colombiana 16(1-2): 172-179.
- BOER, W. DE; VERHEGGEN, P.; PAULIEN, J. A.; GUNNEWIEK, K.; KOWALCHUK, G. A.; VEEN, J. A. VAN. 2003. Microbial community composition affects soil fungistasis. Appl. Environ. Microbiol. 69 (2): 835-844.
- BRUGGEN, A. H. C. VAN; SEMENOV, A. M. 2000. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. Applied

Soil Ecology 15: 13-24.

- BUDGE, S. P.; WHIPPS, J. M. 2001. Potential for integrated control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glasshouse using *Coniothyrium minitans* and reduced fungicide application. *Phytopathology* 91(2): 221-227.
- BULLUCK III, L. R.; BROSIUS, M.; EVANYLO, G. K.; RISTAINO, J. B. 2002. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology* 19: 147-160.
- CHUNG, Y. R.; HOITINK, H. A.H.; LIPPS, P. E. 1988. Interactions between organic-matter decomposition level and soil-borne disease severity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 24: 183-193.
- CRAFT, C. M.; NELSON, E. B. 1996. Microbial properties of compost that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(5): 1550-1557.
- COTXATERRA, L.; TRILLAS-GAY, M. I; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C. 2002. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress fusarium wilt of tomato. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 467-476.
- GARCÍA, R. E. 1996. Enfoque holístico en fitopatología: La búsqueda de agroecosistemas de productividad sostenida, pp 99-106. *In: Ecología Aplicada a la Agricultura: Temas Selectos de México.* TRUJILLO, J.; DE LEÓN, F.; CALDERÓN, R.; TORRES, P. (eds.). Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. D. F., México.
- HANDELSMAN, J.; STABB, E. V. 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *The Plant Cell* 8: 1855-1869.
- HOITINK, H. A. H.; ZHANG, W.; HAN, D. Y.; DICK, W. A. 1997. Making compost to suppress plant disease. *BioCycle* 38(2): 40-42.
- HOITINK, H. A. H.; BOEHM, M. J. 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon. *Ann. Rev. Phytopathol.* 37: 427-451.
- JI, P.; WILSON, M. 2002. Assessment of the importance of similarity in carbon source utilization profiles between the biological control agent and the pathogen in biological control of bacterial speck of tomato. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(9): 4383-4389.
- JOHNSON, L. F.; CURL, E. A. 1972. *Methods for Research on the Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens.* Burgess Publishing Company. Minnesota, USA. 247 p.
- KOCH, E. 1999. Evaluation of commercial products for microbial control of soil-borne plant diseases. *Crop Protection* 18: 119-125.
- LEWIS, J. A.; LUMSDEN, R. D. 2001. Biocontrol of damping-off of green house-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. *Crop Protection* 20: 49-56.
- MERRIMAN, P. R. 1976. Survival of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. *Soil Biol. Biochem.* 8: 385-389.
- PRETTY, J. N. 1995. *Regenerating Agriculture.* Earthscan. London, UK. 320 p.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. 1972 *Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach.* 2<sup>nd</sup> Edition. Mc Graw-Hill Book Company. New York, USA. 632 p.
- WHIPPS, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Experimental Bot.* 52: 487-511.