



# Revista Iberoamericana de Micología

[www.elsevier.es/reviberoammicol](http://www.elsevier.es/reviberoammicol)



## Nota

# Efectos de plaguicidas y bioestimulantes vegetales sobre la germinación de clamidosporas y el desarrollo *in vitro* del hongo nematófago *Pochonia chlamydosporia*



Wilson G. Ceiro<sup>a,\*</sup>, Jersys Arévalo<sup>b</sup> y Leopoldo Hidalgo-Díaz<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Granma, Bayamo, Granma, Cuba

<sup>b</sup> Dirección de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

### Historia del artículo:

Recibido el 17 de diciembre de 2013

Aceptado el 11 de julio de 2014

### Palabras clave:

Sistemas protegidos de producción de hortalizas

Manejo integrado de plagas

Compatibilidad

Control biológico

## R E S U M E N

**Antecedentes:** Se desconocen los efectos que sobre el hongo *Pochonia chlamydosporia* pueden causar los plaguicidas y bioestimulantes vegetales que son usados en sistemas protegidos de producción de hortalizas.

**Objetivos:** La efectividad de *P. chlamydosporia* frente a *Meloidogyne* spp. podría verse afectada por productos usados en sistemas protegidos de producción de hortalizas. Con el fin de evaluar cualquier potencial efecto sobre el hongo, se realizaron dos ensayos *in vitro*.

**Métodos:** El efecto en la germinación de clamidosporas se evaluó en un primer ensayo, y el crecimiento micelial y la producción de clamidosporas en un segundo. Con estos resultados se determinó la compatibilidad de cada producto con el hongo.

**Resultados:** La germinación de clamidosporas fue superior al 50% con los tratamientos control, FitoMas E, Biobras-16 y Amidor; se registraron valores menores con otros productos y algunos incluso la inhibieron completamente. El crecimiento fúngico se potenció con Biobras-16 al 106,23%, lo promovieron entre un 50-100% el control, FitoMas E y Cuproflow, y el resto de productos generó un crecimiento inferior al 50%. La producción de clamidosporas se estimuló con Cipermetrina, Benomilo, Zineb, Mitigan, Karate, FitoMas E y Amidor; con Cuproflow fue menor al 50%, y el resto la inhibió totalmente. De los productos evaluados, el 54% fueron compatibles con *P. chlamydosporia*, el 8% resultaron tóxicos, y el 38%, muy tóxicos.

**Conclusiones:** Fueron compatibles con *P. chlamydosporia* Cipermetrina, Karate, Amidor, Benomilo, Zineb, Mitigan y FitoMas E. De ser necesaria la utilización del resto de los productos para el manejo integrado de plagas en sistemas protegidos de producción de hortalizas, se recomienda evitar el contacto directo con *P. chlamydosporia*.

© 2013 Revista Iberoamericana de Micología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## Effects of pesticides and plant bio-stimulants on the germination of chlamydospores and *in vitro* development of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*

## A B S T R A C T

**Background:** The effects of pesticides and plant bio-stimulants used in protected vegetable production systems on the fungus *Pochonia chlamydosporia* are unknown.

**Aims:** The effectiveness of *P. chlamydosporia* against *Meloidogyne* spp. could be affected by products used in protected vegetable production systems. Two *in vitro* assays were carried out to evaluate any potential effect that pesticides and bio-stimulants often used in these systems could have on the fungus.

**Methods:** The effect on chlamydospore germination was evaluated in a first assay, and mycelia growth and sporulation in a second. With these results, the compatibility of each product with the fungus was determined.

### Keywords:

Protected vegetable production systems

Integrated pest management

Compatibility

Biological control

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [wceiroc@udg.co.cu](mailto:wceiroc@udg.co.cu) (W.G. Ceiro).

**Results:** Chlamydosporos germination was over 50% with the control, FitoMas E, Biobras-16 and Amidor. Lower results were observed with other products, with some of them even inhibiting germination completely. Fungal growth was potentiated by Biobras-16 to 106.23%, promoted up to 50–100% by the control, FitoMas E and Cuproflow, and was below 50% with the rest of the products. Cipermetrina, Benomilo, Zineb, Mitigan, Karate, FitoMas E and Amidor promoted fungal sporulation, which was below 50% with Cuproflow and completely inhibited by the other products. Fifty-four percent of the products evaluated were compatible with *P. chlamydosporia*, while 8% were toxic and 38%, very toxic.

**Conclusions:** Cipermetrina, Karate, Amidor, Benomilo, Zineb, Mitigan and FitoMas E were compatible with *P. chlamydosporia*. If it is necessary to use any of the other products for integrated pest management in protected vegetable production systems, it is recommended to avoid direct contact with *P. chlamydosporia*.

© 2013 Revista Iberoamericana de Micología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

La generalización en Cuba de los sistemas protegidos de producción de hortalizas (SPPH) logró un impacto socioeconómico favorable en la obtención de hortalizas frescas para el mercado local y la exportación<sup>4,12</sup>. Transcurrido un tiempo de instaurada esta tecnología, se detectaron problemas fitosanitarios; entre ellos, las especies de *Meloidogyne* Goeldi causaban disminuciones en los rendimientos agrícolas y pérdidas económicas<sup>9</sup>. Para controlar esta plaga se usaron nematicidas, pero no se lograron los resultados esperados<sup>14</sup>. Por tanto, otras medidas de manejo, como la utilización de especies fúngicas nematófagas, adquieren importancia por su efectividad e inocuidad para el medio ambiente y el hombre<sup>7,20</sup>.

A partir de aislamientos nativos de *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams, se seleccionó la cepa IMI SD 187 de la variedad *catenulata* (Kamyscho ex Barron y Onions) Zare y Gams como la más efectiva para el biocontrol de *Meloidogyne* spp. Se obtuvo de esta manera el bioproducto KlamiC®, utilizado en el biocontrol de nematodos formadores de agallas en sistemas de producción orgánicos de hortalizas<sup>3,5,10</sup>. Actualmente se emplea en SPPH considerados como agroecosistemas perturbados debido a la aplicación sistemática de fertilizantes minerales, plaguicidas y bioestimulantes, factores valorados de alto riesgo para la persistencia del hongo.

Por esta razón, se propuso evaluar los efectos *in vitro* que provocan los plaguicidas y bioestimulantes vegetales más usados en SPPH sobre *P. chlamydosporia*.

Se evaluaron 11 plaguicidas y dos bioestimulantes. Las dosis *in vitro* utilizadas guardaron relación con las aplicadas en campo<sup>18</sup> (tabla 1). Cada producto se incorporó al medio de cultivo según el método de Clark et al. (1982)<sup>6</sup>.

Se preparó el medio agar papa dextrosa con antibiótico (PDA [BioCen]: 39 g/l de H<sub>2</sub>O destilada, más cloranfenicol, tetraciclina y estreptomicina [50 mg/l]) en un matraz Erlenmeyer de un litro. Se esterilizó y se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de 36 °C, momento en que se incorporaron los productos disueltos en H<sub>2</sub>O destilada estéril.

En un primer ensayo se vertieron 10 ml en placas de Petri (80 mm de diámetro) y se añadieron posteriormente 0,2 ml de una suspensión que contenía  $4,3 \times 10^5$  clamidosporas/ml, obtenida a partir del bioproducto KlamiC® (Lote 010213:  $4,3 \times 10^7$  clamidosporas/g, viabilidad del 92,3% y humedad del 6,61%). Las placas se incubaron a 25 °C, durante 48 h. En microscopio (ZEISS-AxioLab®,  $\times 20$ ) se cuantificaron 100 clamidosporas y, de ellas, cuántas estaban germinadas (tubo germinativo superior a dos veces el tamaño de la clamidospora).

En un segundo ensayo se vertieron en placas de Petri 20 ml del medio que contenía los productos, se colocó un disco de 5 mm de diámetro del crecimiento masivo de *P. chlamydosporia* en el centro de la placa y se incubaron durante 21 días a temperatura constante de 25 °C. Se determinó el diámetro de las colonias y se recogieron las clamidosporas en 5 ml de Tween 80 (0,5 ml

de Tween/l de H<sub>2</sub>O destilada). Posteriormente se contabilizaron en una cámara de Neubauer en microscopio ( $\times 20$ ). Se calculó el área de la colonia ( $AC = \pi \cdot r^2$ ) y se determinó la producción de clamidosporas/mm<sup>2</sup> de colonia.

La compatibilidad se obtuvo por el método de Alves et al. (1998)<sup>1</sup>, según la fórmula  $T = [20 (CV) + 80 (ESP)] / 100$ ; donde T es toxicidad, CV, crecimiento micelial (%) y ESP, producción de clamidosporas (%). Se realizó una clasificación de acuerdo con los valores siguientes: 0–30 = muy tóxico; 31–45 = tóxico; 46–60 = moderadamente tóxico; > 60 = compatible.

Cada producto constituyó un tratamiento y un control, con seis réplicas, bajo diseño completamente aleatorizado, con dos repeticiones en el tiempo. Las variables germinación de clamidosporas y área de la colonia se transformaron por ASENSO ( $\sqrt{x}/100$ ) y  $\text{Log}_{10}(x+1)$ , respectivamente. Los datos se analizaron mediante ANOVA unifactorial y se compararon con la prueba de Tukey ( $p = 0,05$ ), utilizándose el paquete STATISTICA v. 8.

En el primer estudio, se alcanzó una germinación superior al 90% en los tratamientos control y FitoMas E; la germinación fue del 50–90% con Biobras-16 y Amidor, y el resto de los plaguicidas produjeron una germinación inferior al 50% o inhibieron totalmente este proceso (tabla 2).

En el segundo ensayo, el crecimiento fúngico se potenció hasta un 106,23% con Biobras-16, comparado con el control. Este crecimiento fúngico estuvo entre 50–100% con el control, FitoMas E y Cuproflow. Los demás plaguicidas analizados dieron lugar a un desarrollo micelial inferior al 50%, y los fungicidas Mancozeb, Domark y Galben inhibieron totalmente el crecimiento (tabla 2).

La producción de clamidosporas se estimuló con Cipermetrina, Benomilo, Zineb, Karate, FitoMas E y Amidor en comparación con el control. Cuproflow produjo clamidosporas por debajo del 50% y Biobras-16, Rogor, Mancozeb, Domark y Galben impidieron el desarrollo de este proceso (tabla 2).

Un 54% de los productos resultó compatible con el hongo, un 8% fueron tóxicos y un 38% muy tóxicos (tabla 2).

Algunos tratamientos inhibidores de la germinación de clamidosporas y del crecimiento micelial estimularon la producción de clamidosporas/mm<sup>2</sup>, lo cual puede estar relacionado con una respuesta intrínseca de la cepa para lograr mantenerse a pesar de los efectos de esos productos.

En agroecosistemas donde se utilice *P. chlamydosporia* se recomienda el uso racionalizado de los productos que inhiben al menos en el 50% la germinación de clamidosporas.

Los insecticidas Cipermetrina, Karate y Amidor, los fungicidas Benomilo y Zineb, el acaricida Mitigan y el bioestimulante FitoMas E pueden utilizarse de forma segura en el manejo integrado de plagas en SPPH.

Si bien el efecto de los fungicidas en agricultura es bien conocido<sup>16,19,22</sup>, en la presente investigación se observó que el bioestimulante Biobras-16 y el acaricida Rogor tuvieron un efecto

**Tabla 1**Dosis de los plaguicidas y bioestimulantes vegetales usados para la evaluación de la compatibilidad con *Pochonia chlamydosporia*

| Nombre químico                                                                                                                                                                                                                              | Nombre comercial   | Acción                 | Dosis <sup>a</sup> (%) |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|------------------------|------------------------|
| Mezcla de sales minerales + sustancias naturales (aminoácidos, sacáridos y polisacáridos)                                                                                                                                                   | FitoMas E          | Bioestimulante vegetal | 0,02                   |
| Brasinólido: [(2a, 3a, 22R, 23R)-tetrahidroxi-24a-metil B-homo-7-oxa-5a colestano-6-ona]                                                                                                                                                    | Biobras-16         | Bioestimulante vegetal | 0,40                   |
| Trihidroxi cloruro de dicobre                                                                                                                                                                                                               | Cuproflow SC 37,75 | Fungicida              | 0,03                   |
| Etileno bis-ditiocarbamato de cinc                                                                                                                                                                                                          | Zineb PH 80        | Fungicida              | 0,02                   |
| 1-benzimidazol-2-ilcarbamato de metilo                                                                                                                                                                                                      | Benomilo PH 50     | Fungicida              | 2,00                   |
| (RS)-2-(2,4-diclorofenil)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-il) propil 1,1,2,2-tetrafluoroetil éter                                                                                                                                                     | Domark 100 CE 10   | Fungicida              | 0,01                   |
| Metil-N-fenilacetil-N-2,6,xilil-DL-alanina + Ion cinc de etileno bis ditiocarbamato de manganeso                                                                                                                                            | Galben PH 8        | Fungicida              | 0,002                  |
| Ion cinc de etileno bis ditiocarbamato de manganeso                                                                                                                                                                                         | Mancozeb PH 80     | Fungicida              | 0,02                   |
| (Z)-(1R,3R)-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato de (S)-α-ciano-3-fenoxibencilo + (Z)-(1S,3S)-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato de (R)-α-ciano-3-fenoxibencilo | Karate CE 5,0      | Insecticida            | 0,17                   |
| (1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato                                                                                                                                                                   | Cipermetrina CE 10 | Insecticida            | 0,5                    |
| O,S-dimetilfosfamidotioato                                                                                                                                                                                                                  | Amidor CS 60       | Insecticida            | 0,006                  |
| 2,2,2-tricloro-1,1-bis(4-clorofenil)etanol                                                                                                                                                                                                  | Mitigan CE 18,5    | Acaricida              | 0,002                  |
| O,O-dimetil S-metilcarbamoilmetil fosforoditioato                                                                                                                                                                                           | Rogor L 40         | Acaricida              | 0,004                  |

<sup>a</sup> La dosis *in vitro* de cada producto guardó relación con las utilizadas para el manejo integrado de plagas en el campo, de acuerdo con el Registro Central de Plaguicidas<sup>18</sup>.**Tabla 2**Efecto de los plaguicidas y bioestimulantes vegetales sobre la germinación y producción de clamidosporas, crecimiento micelial y compatibilidad con *Pochonia chlamydosporia*

| Tratamientos       | Acción           | G ± DE (n = 100) | AC ± DE (n = 6)   | AC %   | PC ± DE (n = 6) | PC %   | Valor T y compatibilidad |
|--------------------|------------------|------------------|-------------------|--------|-----------------|--------|--------------------------|
| Control            | Medio de cultivo | 91,60 ± 0,12 a   | 4.218,16 ± 0,01 a | 100,00 | 7,56 ± 0,56 ed  | 100,00 | 100,00 C                 |
| FitoMas E          | Bioestimulante   | 91,00 ± 0,11 a   | 3.256,81 ± 0,02 b | 77,21  | 12,77 ± 1,34 d  | 169,10 | 150,72 C                 |
| Biobras-16         | Bioestimulante   | 81,20 ± 0,12 b   | 4.480,90 ± 0,04 a | 106,23 | 0,00 ± 0,00 e   | 0,00   | 21,25 MT                 |
| Amidor CS 60       | Insecticida      | 64,20 ± 0,18 c   | 552,05 ± 2,08 f   | 13,09  | 8,06 ± 2,08 ed  | 106,80 | 88,06 C                  |
| Cipermetrina CE 10 | Insecticida      | 38,60 ± 0,06 d   | 774,48 ± 0,02 e   | 18,36  | 36,14 ± 6,56 a  | 478,71 | 386,64 C                 |
| Karate CE 5,0      | Insecticida      | 38,60 ± 0,07 d   | 153,59 ± 0,12 g   | 3,64   | 23,05 ± 10,51 c | 305,25 | 244,93 C                 |
| Mitigan CE 18,5    | Acaricida        | 28,00 ± 0,16 de  | 158,73 ± 0,05 g   | 3,76   | 26,10 ± 6,01 cb | 345,67 | 277,29 C                 |
| Benomilo PH 50     | Fungicida        | 22,20 ± 0,12 e   | 452,55 ± 0,03 f   | 10,73  | 34,29 ± 9,62 ba | 454,17 | 365,48 C                 |
| Zineb PH 80        | Fungicida        | 2,20 ± 0,22 f    | 1.479,41 ± 0,02 d | 35,07  | 24,23 ± 1,58 cb | 320,90 | 263,73 C                 |
| Cuproflow SC 37,75 | Fungicida        | 00,00 ± 0,00 f   | 2.180,77 ± 0,02 c | 51,70  | 2,41 ± 0,94 e   | 31,93  | 35,88 Tx                 |
| Rogor L 40         | Acaricida        | 00,00 ± 0,00 f   | 26,53 ± 0,07 h    | 0,63   | 0,00 ± 0,00 e   | 0,00   | 0,13 MT                  |
| Mancozeb PH 80     | Fungicida        | 00,00 ± 0,00 f   | 0,00 ± 0,00 i     | 0,00   | 0,00 ± 0,00 e   | 0,00   | 0,00 MT                  |
| Domark 100 CE 10   | Fungicida        | 00,00 ± 0,00 f   | 0,00 ± 0,00 i     | 0,00   | 0,00 ± 0,00 e   | 0,00   | 0,00 MT                  |
| Galben PH 8        | Fungicida        | 00,00 ± 0,00 f   | 0,00 ± 0,00 i     | 0,00   | 0,00 ± 0,00 e   | 0,00   | 0,00 MT                  |

AC: área de la colonia (mm<sup>2</sup>); C: compatible; DE: desviación estándar; G: germinación de clamidosporas (%); MT: muy tóxico; PC: producción de clamidosporas (mm<sup>2</sup>); T: valor calculado de la toxicidad; Tx: tóxico.

a-i: las distintas letras en las columnas evidencian diferencias significativas según la prueba de Tukey (p = 0,05).

negativo sobre *P. chlamydosporia* var. *catenulata*. Las sustancias químicas constitutivas de estos productos, brasinólido en el bioestimulante y dimetoato en el acaricida, inhibieron totalmente la producción de clamidosporas (tabla 2).

Plaguicidas organofosforados afectaron la permeabilidad de las membranas celulares y la síntesis enzimática de hongos<sup>2</sup>. Quizás estas mismas causas provocaron los efectos inhibitorios de algunos productos sobre *P. chlamydosporia*. Otros estudios informaron de que el nematocida fostiazato provocó una reducción del 55% de las poblaciones de *P. chlamydosporia* en el suelo<sup>11</sup>, y también se ha documentado el efecto fungicida de algunos insecticidas sobre hongos entomopatógenos<sup>8,17</sup>.

Como alternativa a los productos incompatibles con *P. chlamydosporia* se recomiendan medidas menos agresivas, como el uso de ácaros depredadores<sup>21</sup>, el hongo antagonista *Trichoderma*<sup>13</sup> y plaguicidas de origen botánico<sup>15</sup>.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al ingeniero Angel Moreno Torres, exespecialista en Sanidad Vegetal del Módulo de SPPH de Veguitas, Granma, Cuba, el suministro de los plaguicidas utilizados en el presente estudio.

## Bibliografía

- Alves SB, Moino JÁ, Almeida JEM. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. En: Alves SB, editor. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ; 1998. p. 217–38.
- Archana MR, Ramaswamy K. Interactive effect of entomopathogenic fungi *Paeclomyces fumosoroseus* with few organophosphate and pyrethroid pesticides: An *in vitro* study. Ind J Fund Appl Life Sci. 2012;2:10–7.
- Atkins SD, Hidalgo-Díaz L, Kalisz H, Mauchline TH, Hirsch PR, Kerry BR. Development of a new management strategy for the control of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in organic vegetable production. Pest Manag Sci. 2003;59:183–9.
- Casanova A, Gómez O, Pupo FR, Hernández M, Chailloux M, Depestre T, et al. Manual para la producción protegida de hortalizas. La Habana, Cuba: MINAG-Viceministerio de Cultivos Varios-IIHLD; 2007.
- Ceiro WG. Evaluación de una alternativa de manejo sostenible para *Meloidogyne* spp. en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Rev Protección Veg. 2010;25:197.

6. Clark RA, Casagrande RA, Wallace DB. Influence of pesticides on *Beauveria bassiana*, a pathogen of the Colorado potato beetle. *Environ Entomol*. 1982;11:67–70.
7. Costa S, van der Putten WH, Kerry BR. Microbial ecology and nematode control in natural ecosystems. En: Davies K, Spiegel Y, editores. *Biological control of plant-parasitic nematodes: Building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms (progress in biological control)*. London, New York: Springer Dordrecht Heidelberg; 2011. p. 39–64.
8. De Oliveira CN, Oliveira Janeiro Neves PM, Sueki LK. Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. *Sci Agric (Piracicaba, Braz)*. 2003;60:663–7.
9. Gómez L, Rodríguez MG, Enrique R, Miranda I, González E. Factores limitantes de los rendimientos y calidad de las cosechas en la producción protegida de hortalizas en Cuba. *Rev Proteccion Veg*. 2009;24:117–22.
10. Hernández MA, Hidalgo-Díaz L. Klamit<sup>®</sup>: Bionematicida agrícola producido a partir del hongo *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*. *Rev Proteccion Veg*. 2008;23:131–4.
11. Jacobs H, Gray SN, Crump DH. Interactions between nematophagous fungi and consequences for their potential as biological agents for the control of potato cyst nematodes. *Mycol Res*. 2003;107:47–56.
12. Largo M, Medina EA, Fumero G. Sostenibilidad económica de los cultivos protegidos. *Rev Dig Soc Inf*. 2012;38:1–9.
13. Martínez B, Infante D, Yusimy R. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Rev Proteccion Veg*. 2013;28:1–11.
14. Pérez E, Fernández E, Cuadra R, Paredes E. Métodos de preparación de suelo, rotaciones de cultivos, policultivos y cultivos trampas para el control de plagas de suelo, como alternativas al bromuro de metilo. En: Pérez E, editor. *Tecnologías en el proceso de eliminación total del bromuro de metilo en tratamientos al suelo en Cuba*. La Habana, Cuba: CIDISAV; 2012. p. 5–27.
15. Pino O, Sánchez Y, Rodríguez H, Correa TM, Demedio J, Sanabria JL. Caracterización química y actividad acaricida del aceite esencial de *Piper aduncum* subsp. *ossanum* frente a *Varroa destructor*. *Rev Proteccion Veg*. 2011;26:52–61.
16. Pupo YG, Kalombo D, Herrera L, Malheiros DI, Vargas B. Efecto de extractos vegetales en el crecimiento y germinación de esporas de *Alternaria solani* (E. & M.) J. & G. en condiciones *in vitro*. *Rev Iberoam Micol*. 2011;28:60.
17. Ramzan MA, Hamid MB, Afzal M, Ashfaq M, Talib SS. Compatibility of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* with selective insecticides. *Pak J Bot*. 2010;42:4207–14.
18. Registro Central de Plaguicidas (RCP). Lista oficial de plaguicidas autorizados 2011–2012. República de Cuba; 2012. p. 397.
19. Reyes Y, Infante D, García-Borrego J, del Pozo E, Cruz A, Martínez B. Compatibilidad de *Trichoderma asperellum* Samuels con herbicidas de mayor uso en el cultivo del arroz. *Rev Proteccion Veg*. 2012;27:45–53.
20. Reza MM, Zare R. Fungi as biological control agents of plant-parasitic nematodes. En: Mérillon JM, Ramawat KG, editores. *Plant defence: Biological control, progress in biological control*. London, New York: Springer Dordrecht Heidelberg; 2012. p. 67–107.
21. Rodríguez H, Montoya A, Pérez-Madruga Y, Ramos M. Reproducción masiva de ácaros depredadores *Phytoseiidae*: retos y perspectivas para Cuba. *Rev Proteccion Veg*. 2013;28:12–22.
22. Yáñez M, France A. Effects of fungicides on the development of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Chilean J Agric Res*. 2010;70:390–8.