# BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL



Vol. 20 No 2 · Julio-Diciembre 2022 · ISSN-1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: https://doi.org/10.18684

# Especies nativas de Trichoderma aisladas de plantaciones de aguacate con actividad inhibitoria contra Phytophthora cinnamomi\*

# Native species of Trichoderma isolated from avocado plantations with inhibitory activity against Phytophthora cinnamomi

BARBOZA-GARCÍA, ADRIÁN1; PÉREZ-CORDERO, ALEXANDER2; ANAYA-CHAMORRO, LEONARDO3

#### Historial del artículo

**Recibido para evaluación:** 15 de febrero 2021 Aprobado para publicación: 7 de Febrero 2022

- \* Proyecto de investigación de origen: "Competencias empresariales y de innovación para el desarrollo económico y la inclusión productiva de las regiones afectadas por el conflicto colombiano en el marco del programa Reconstrucción del tejido social en zonas de posconflicto en Colombia". Financiación: Banca Mundial, Colciencias y Ministerio de Educación. En el marco de la convocatoria No 778-2017.
- 1 Universidad de Sucre, facultad de Educación y Ciencias, Departamento de Biología, Grupo de Investigación Bioprospección Agropecuaria. Estudiante de Maestría. Sincelejo, Colombia. https://orcid.org/0000-0001-6957-3075
- 2 Universidad de Sucre, facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Zootecnia, Grupo de Investigación Bioprospección Agropecuaria. PhD. Microbiología Agrícola. Sincelejo, Colombia. https://orcid.org/0000-0003-3989-1747
- 3 Universidad de Sucre, facultad de Educación y Ciencias, Departamento de Biología, Grupo de Investigación Bioprospección Agropecuaria. M.Sc en Biología. Sincelejo, Colombia. https://orcid.org/0000-0002-3336-7971

Correspondencia: adriangarcia1695@gmail.com

Cómo citar este artículo: BARBOZA-GARCÍA, ADRIÁN; PÉREZ-CORDERO, ALEXANDER; ANAYA-CHAMORRO, LEONARDO. Especies nativas de Trichoderma aisladas de plantaciones de aguacate con actividad inhibitoria contra *Phytophthora cinnamomi*. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, v. 20, n. 2, 2022, p. 102-116. Doi: https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n2.2022.1852



# **RESUMEN**

La subregión Montes de María es uno de los mayores productores de aguacate de la región del Caribe. En los últimos años, los cultivos de aguacate en la subregión han presentado una disminución debido a la enfermedad llamada tristeza del aguacate ocasionada por el hongo Phytophthora cinnamomi, el cual se puede controlar mediante el uso principal de agentes químicos, sin embargo, causan problemas ambientales. Por esta razón, las especies del género Trichoderma se han convertido en una alternativa para sustituir la aplicación de químicos en los cultivos debido a sus múltiples mecanismos de acción como antibiosis, micoparasitismo, competencia por espacio y nutrientes. El objetivo de este estudio fue evaluar in vitro la actividad inhibitoria de cepas nativas de Trichoderma spp. contra P. cinnamomi e identificar molecularmente las cepas de Trichoderma spp. Se realizó la captura de Trichoderma spp. en cultivos de aguacate presentes en los municipios de Chalan y Ovejas mediante cultivos trampas de arroz precocido. Una vez purificados los aislados en el laboratorio se realizó la prueba antagonismo in vitro en medio de cultivo dual PDA-V8 contra P. cinnamomi. Los aislados que presentaron inhibición contra el patógeno se les realizó extracción de DNA mediante el kit DNeasy Plant Mini® con el fin de amplificar mediante PCR el gen tef1. Se aislaron en total 30 cepas de Trichoderma spp., de las cuales 9 presentaron inhibición mediante micoparasitismo. Estas fueron identificadas molecularmente como Trichoderma harzianum y T. viride. Ambas especies presentan un amplio espectro para el control de patógenos, las cuales han sido utilizadas para el manejo de enfermedades en los cultivos de interés económico y muestran resultados preliminares de actividad inhibitoria contra P. cinnamomi.

# **ABSTRACT**

The Montes de María subregion is one of the largest avocado producers in the Caribbean region. In recent years, avocado crops in the subregion have shown a decrease due to the disease called avocado sadness caused by the fungus Phytophthora cinnamomi, which can be controlled through the main use of chemical agents, however, they cause environmental problems. For this reason, species of the genus Trichoderma have become an alternative to replace the application of chemicals in crops due to their multiple mechanisms of action such as antibiosis, mycoparasitism, competition for space and nutrients. The objective of this study was to evaluate in vitro the inhibitory activity of native strains of Trichoderma spp. against P. cinnamomi and to molecularly identify the strains of Trichoderma spp. Trichoderma spp. was caught in avocado crops present in the municipalities of Chalan and Ovejas by means of precooked rice trap crops. Once the isolates were purified in the laboratory, the in vitro antagonism test was performed in dual culture medium PDA-V8 against P. cinnamomi. The isolates that presented inhibition against the pathogen were DNA extracted using the DNeasy Plant Mini kit® in order to amplify the tef1 gene by PCR. A total of 30 strains of Trichoderma spp. were isolated, of which 9 were inhibited by mycoparasitism. These

# **PALABRAS CLAVE:**

Antibiosis; Aguacate; Competencia; Posconflicto; Rendimiento; *Trichoderma harzianum*; *Trichoderma viride*; Micoparasitismo; *Phytophthora cinnamomi*; Montes de María.

### **KEYWORDS:**

Antibiosis; Avocado; Competition; Post-conflict; Performance; *Trichoderma* harzianum; *Trichoderma* viride; Mycoparasitism; *Phytophthora* cinnamomi; Montes de María. were molecularly identified as *Trichoderma harzianum* and *T. viride*. Both species present a broad spectrum for the control of pathogens, which have been used for the management of diseases in crops of economic interest and show preliminary results of inhibitory activity against *P. cinnamomi*.

# INTRODUCCIÓN

El aguacate es considerado uno de los principales cultivos en zonas tropicales y subtropicales del mundo. Esta fruta ha presentado una gran demanda en los mercados nacionales e internacionales debido a su alto contenido nutricional, aplicación en la industria cosmética y farmacéutica (Araújo *et al.*, 2018), lo que ha provocado el interés en países que tienen zonas con suelos ricos en minerales y fuentes hídricas adecuadas para su producción (Ramirez *et al.*, 2018). En los últimos años, la producción mundial de aguacate fue de aproximadamente de 4,2 millones de toneladas por año, siendo Colombia el cuarto productor de aguacate del mundo, aportando el 5 % de la producción mundial de este fruto (Arias y Moors, 2018). En Colombia, los departamentos que presentan mayor producción de aguacate son Caldas, Antioquia, Bolívar, Cauca, Risaralda, Quindío y Tolima, éste último, el de mayor producción aportando aproximadamente 84.341 ton (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, MADR, 2019).

Una de las principales actividades económicas de los Montes de María, específicamente de los municipios de Ovejas y Chalán, es la producción del cultivo de aguacate, que junto al municipio del Carmen de Bolívar y San Jacinto representan el 90 % del total de la producción regional (Aguilera, 2013; Osorio, 2017), sin embargo, en los últimos años el cultivo de aguacate en los Montes de María ha presentado problemas fitosanitarios, que pudieron ocurrir por el abandono de los agricultores de sus parcelas por causa del conflicto armado en la zona (Burbano, 2019), lo que favoreció la proliferación de enfermedades por la falta de control fitosanitario. Dentro de las enfermedades que actualmente afectan el cultivo de aguacate en los Montes de María se encuentra la tristeza del aguacate o pudrición radicular ocasionado por *Phytophthora cinnamomi*, la cual ha disminuido de manera considerable la producción y comercialización del fruto en la subregión (Puello, 2016; Hardman and Blackman, 2018).

La enfermedad en la planta de aguacate se caracteriza por presentar lesiones necróticas en el sistema radicular ocasionando una disminución en la absorción de agua y minerales (Mamani, 2017; Sena et al., 2019). A medida que la infección avanza, se observa la base del tallo necrosa lo que provoca que las ramas principales y secundarias comiencen a secarse y el fruto no se desarrolle por completo (Masikane et al., 2019).

Actualmente, el control de la enfermedad se basa principalmente en la aplicación de productos químicos como las sales de fosfito y metalaxis, que bloquean el desarrollo de *P. cinnamomi*, sin embargo, estos agroquímicos ocasionan cambios en la microbiota del suelo, degradación del suelo y eutrofización. Así mismo, ha generado que cepas se vuelvan resistentes a los fungicidas comerciales y, a su vez, estos afectan el ambiente y la salud, por lo que es necesario la búsqueda de nuevos agentes antifúngicos de bajo impacto ecológico (Olea *et al.*, 2019; Belisle *et al.*, 2019).

Una alternativa para sustituir el control químico es el género *Trichoderma*, que incluye diversas especies de importancia agrícola para el control biológico y la promoción de crecimiento vegetal (Nawaz et al., 2018). *Trichoderma* spp. tienen la capacidad de sintetizar una gran diversidad de moléculas como biocontrol contra fitopatógenos e inducir en la planta mecanismos moleculares como la resistencia sistémica adquirida (SAR) y resistencia sistémica inducida (ISR) (Saravanakumar et al., 2018; Baiyee et al., 2019). Además de ser una herramienta biotecnológica porque presentan grandes beneficios para la agricultura, como inductores de la actividad promotora de crecimiento vegetal, la producción de enzimas y metabolitos que ayudan a inhibir los patógenos que ocasionan enfermedades en plantas (Ye et al., 2020; Zin and Badaluddin, 2020; Manzar et al., 2020; Macias et al., 2020).

Dada la importancia biológica de las especies de *Trichoderma* spp., en la actualidad ha aumentado el interés por descubrir nuevas especies en diferente hábitat, sin embargo, en el departamento de Sucre no se han realizado estudios previos que utilicen cepas nativas de *Trichoderma* spp. como alternativa biológica para el manejo del fitopatógeno *P. cinnamomi* en plantaciones de aguacate. Por tal razón, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad inhibitoria *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. contra *P. cinnamomi* aisladas de cultivares de aguacate de los Montes de María, departamento de Sucre.

# **MÉTODO**

### Área de estudio

La investigación se realizó en los municipios de Ovejas (9°31′33″N 75°13′38″O y altitud de 254 m.s.n.m) y Chalán (9°32′38″N 75°18′45″O y altitud de 270 m.s.n.m), pertenecientes a la subregión Montes de María, departamento de Sucre, Colombia, clasificada como zona de bosque seco tropical con paisaje característico de montaña. Presenta una temperatura promedio de 27 °C y con precipitaciones que pueden variar entre los 1,000 y 1,200 mL al año (Aguilera, 2013; Martínez et al., 2016).

# Aislamiento de Phytophthora cinnamomi

Se recolectaron raíces de plantas de aguacate con síntomas característicos de ataque de *P. cinnamomi* Rands. Las muestras de las raíces recolectadas fueron lavadas con agua destilada estéril, luego se realizaron cortes de 2 cm para ser sometidos a desinfección superficial con etanol (70 %) por 30 s, seguido de un lavado en agua destilada estéril por 30 s, después sumergidas en hipoclorito de sodio (3 %) por 30 s y, por último, se lavaron con agua destilada estéril por 30 s. De las muestras desinfestadas se cortaron trozos pequeños de 1 mm y se sembraron en medio V8 (jugo V8 200 mL, CaCO<sub>3</sub> 3,0 g, agar 15,0 g, pH: 6,5 en 1,000 mL de agua destilada) (Mamani, 2017). Las cajas Petri inoculadas se incubaron a 28 °C por 15 días (Chañag *et al.*, 2018).

#### Cultivos trampa para la captura de Trichoderma spp

Los muestreos se realizaron en la unidad productiva de cultivos de aguacate en los municipios de Chalán (Vereda el Limón) y Ovejas (Vereda Salitral), para ello se utilizaron cultivos trampas construidas con recipientes plásticos, en los cuales fueron colocadas porciones de arroz precocido, luego se cubrieron con una malla de gasa. Estas trampas fueron ubicadas por debajo del nivel del suelo al lado de las plantas de aguacate de forma aleatoria, por todo el lote de cultivo, se seleccionaron aquellos lugares con mayor humedad y presencia de materia orgánica en descomposición. En total se ubicaron 10 trampas por sitio de muestreo, las cuales se dejaron por un periodo de 7 a 14 días para darle tiempo al hongo de colonizar el arroz. Para garantizar el aislado de la cepa nativa se tomaron muestras de suelo, las cuales fueron recolectadas de 10 sitios o parcelas de cultivos de aguacate en el municipio de Chalán y Ovejas, donde no existían indicios de la aplicación de productos microbiológicos comerciales a base de *Trichoderma*. Por cada zona se tomaron 3 muestras de suelo (1 kg cada una), a una profundidad de 20 cm al lado de cada árbol de aguacate, se recolectaron con ayuda de una pala desinfectada previamente. Las muestras se depositaron en bolsas marca Ziploc debidamente selladas para luego ser transportadas al laboratorio de microbiología de la Universidad de Sucre para ser procesadas (Acurio y España, 2017; Nugra, 2018).

### Identificación de los microorganismos aislados

Las cajas Petri que presentaron las características similares de *Trichoderma* spp. fueron asiladas a partir de los cultivos puros mediante la técnica de cinta adhesiva, la cual consiste en colocar la cinta sobre la superficie de la colonia de *Trichoderma* spp. y retirarla para posteriormente colocarla sobre un portaobjeto con una gota de lactofenol y observar al microscopio 4X a 40X. De cada aislamiento se observaron las estructuras macroscópicas (densidad del micelio, olor

y color) y microscópicas (conidióforos, conidios, fiálide y forma de clamidósporas). La identificación taxonómica a nivel de género se realizó mediante las claves propuesta por Barnett y Hunter (1998), mientras que para la identificación de la especie de *Phytophthora* sp. se utilizó la guía de reconocimiento propuesta por (Tenorio, 2010).

# Prueba in vitro de antagonismo de Trichoderma spp. contra Phytophthora cinnamomi

Se tomaron discos de micelio de aproximadamente 5 mm de diámetro de antagonista y patógeno, y se inocularon en ambos extremos en cajas Petri que contenían medio dual PDA-V8, separados aproximadamente 6 cm uno de otro; se incubaron a 28±2 C durante 12 días. Se utilizó como control negativo *P. cinnamomi* sin agroquímico y para el control positivo se aplicó 20 µL del fungicida fosetil aluminio. Los resultados de actividad inhibitoria se evidenciaron mediante el crecimiento de *Trichoderma* spp. en caja Petri (Martinez *et al.*, 2008; De Oliveira *et al.*, 2020; Rajani *et al.*, 2020).

Para evaluar la capacidad antagónica de las cepas de *Trichoderma spp. contra P. cinnamomi*, se calculó el porcentaje de inhibición empleando la siguiente fórmula propuesta por Jaramillo (2014):

$$PICR = \frac{R_1 - R_2}{R_1} x \ 100$$

Donde R1 es el radio del patógeno testigo y R2 es el crecimiento radial del fitopatógeno expuesto al antagonista.

Así mismo, se utilizó la escala de antagonismo propuesta por Ezziyyani et al., (2005), con el fin de determinar el grado de actividad antagónica in vitro de *Trichoderma* spp. contra *P. cinnamomi* (cuadro 1).

Grado	Capacidad antagónica
1	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
2	Invasión 25 % de la superficie del medio de cultivo en presencia del patógeno.
3	Invasión 50 % de la superficie del medio de cultivo en presencia del patógeno.
4	Invasión 75 % de la superficie del medio de cultivo en presencia del patógeno.
5	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno esporulación sobre ella.

Cuadro 1. Escala de la actividad antagónica de Trichoderma spp.

# Extracción de DNA de cepas de Trichoderma spp.

Del medio papa dextrosa-agar PDA (extracto de papa 4,0 g, dextrosa 20 g, agar-agar 15,0 g, pH: 6,5 en 1,000 mL de agua destilada) se extrajeron colonias puras de cada cepa de *Trichoderma* spp. y se incubaron a  $25\pm2$  °C por tres días con fotoperiodo (12 h luz/oscuridad). Se pesaron 100 mg de micelio fresco el cual fue macerado en nitrógeno líquido con la ayuda de un mortero. El DNA se extrajo con el kit comercial DNeasy Plant Mini® siguiendo el protocolo del fabricante (Vázquez *et al.*, 2015; Gamarra *et al.*, 2018). Para verificar la presencia de DNA fue realizada una electroforesis en gel de agarosa 0,5 % en tampón TBE; se tomaron 3  $\mu$ L de DNA puro y se mezclaron con 4  $\mu$ L de colorante Orange, usando como referencia un marcador molecular de 100 pb. Para la visualización con un tiempo de corrida de 2 horas a 70 voltios usando una fuente de poder Power PacTM Basic 300V/400mA/75W BIO-RAD.

### Amplificación del gen factor de elongación de la traducción 1 (tef1)

El DNA extraído fue sometido a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar la región del gen tef1 del DNAr. En la reacción de PCR se utilizó un volumen final de 25 μL de la mezcla de reacción, preparada

de la siguiente manera: 2,5  $\mu$ L de buffer; 1,5  $\mu$ L de MgCl<sub>2</sub> 25 mM; 1,5  $\mu$ L de dNTP 10 mM; 0,75  $\mu$ L de iniciador EF1-728F5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3'a 0,2 mM y 0,75  $\mu$ L a 0,2 mM Tef1-Llevrev 5'-AACTTGCAGG-CAA-TGTGG-3'; y 0,5  $\mu$ L Taq DNA polimerasa en 12,5  $\mu$ L de agua ultrapura estéril (Druzhinina, 2009; Maniscalco y Dorta, 2015). Se utilizó como control positivo *Trichoderma harzianum* y control negativo agua estéril.

### Secuenciación de los productos de PCR

Los productos amplificados fueron enviados a secuenciación a la empresa Macrogen (Seoul, South Korea) en un secuenciador automático con capilar 3730XL. Las entidades de las secuencias nucleotídicas obtenidas fueron comparadas con las almacenadas en bancos de datos de la National Center for Biotechnology Information (NCBI). El alineamiento de las bases fue realizado por clustal W, las inferencias filogenéticas fueron obtenidas por método Neighbor-Joining basado en el modelo kimura-2-parámetro con prueba bootstrap 1.000 réplicas con el programa MEGA X.

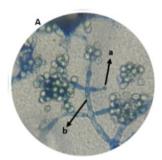
#### Análisis estadístico

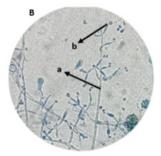
Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA) para la actividad inhibitoria de *Trichoderma* spp. contra *P. cinnamomi*. Así mismo, se aplicó la prueba múltiple de rango Duncan para establecer diferencias (p<0,05) en cuanto a los porcentajes de inhibición de las cepas de *Trichoderma* spp. contra el fitopatógeno. El experimento se realizó por triplicado y los datos fueron analizados en el programa estadístico Infostat versión estudiantil.

# **RESULTADOS**

### Aislamiento de Trichoderma spp. y P. cinnamomi de cultivos de aguacate de los Montes de María

Fueron aisladas un total de 30 cepas (19 para el municipio de Chalán y 11 para el municipio de Ovejas). Debido a su crecimiento en medio PDA y observado sus estructuras bajo microscopio se pudo evidenciar que pertenecían al género *Trichoderma* (figura 1).





**Figura 1.** Estructura morfológica de *Trichoderma* spp. observada bajo microscopio óptico a 40X Municipio de (**A**) Ovejas y (**B**) Chalán. (a) conidióforos, (b) conidios.

*P. cinnamomi* se caracteriza por presentar un micelio algodonoso cuando crece en medio V8. Bajo microscopio, las hifas se observaron con hinchazones bien marcados, micelio sin septos y esporangio ovoide, las cuales son características particulares para identificar este tipo de microorganismo (figura 2).

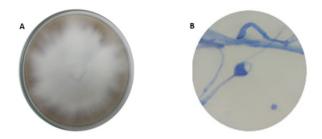


Figura 2. Identificación microscópica de Phytophthora cinnamomi. (A) Crecimiento micelial (B) Esporangio ovoide 40X.

# Actividad inhibitoria in vitro de Trichoderma spp. contra P. cinnamomi

De las 30 cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de cultivos de aguacate en los municipios de Chalán y Ovejas, solo 5 cepas de Chalán y 4 de Ovejas presentaron inhibición contra patógeno (figura 3).

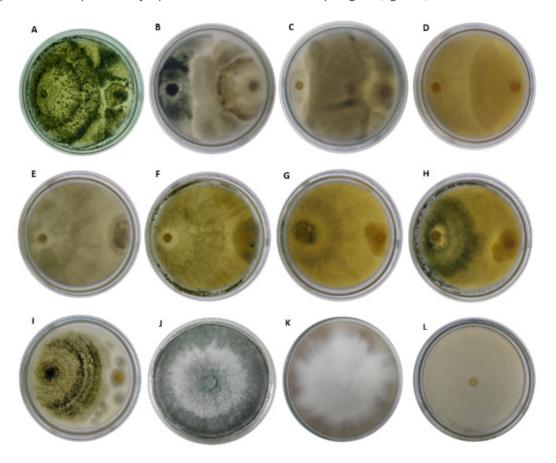


Figura 3. Inhibición in vitro de cepas de Trichoderma spp. contra P. cinnamomi.

(A) C1OVLIM, (B) C2OVLIM, (C) C3OVLIM, (D) C4OVLIM, (E) C1CHLIM, (F) C2CHLIM, (G) C3CHLIM, (H) C4CHLIM, (I) C5CHLIM, (J) control negativo *Trichoderma* spp. (K) control negativo *P. cinnamomi* (L) control positivo *P. cinnamomi* + fosetil aluminio, (C): cepa, (OV): Ovejas, (CH): Chalán, (LIM): Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas, Universidad de Sucre.

La prueba múltiple de rango Duncan muestra diferencias estadísticas significativas (p<0,05) entre las cepas aisladas de los municipios de Chalán y Ovejas, demostrando que las cepas C1OVLIM (94,5 %) y C5CHLIM (87,8 %) presentaron los mejores promedios de inhibición, mientras que el control químico (fosetil aluminio) el mayor promedio (98,6 %) de inhibición contra *P. cinnamomi* (figura 4).

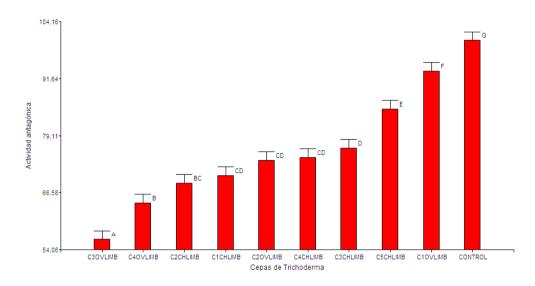
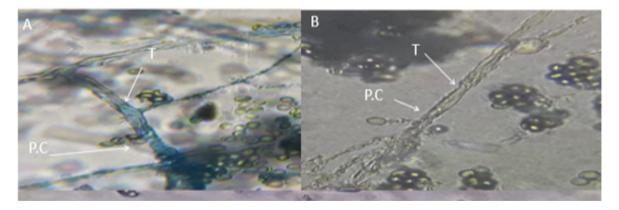


Figura 4. Porcentaje de inhibición de Trichoderma spp. contra P. cinnamomi.

El grado de actividad antagónica fue por micoparasitismo, la cepa C1OVLIMB fue de grado 5 ocupando completamente la superficie del medio de cultivo en presencia del patógeno, mientras que la cepa C5CHLIMB presentó grado 3 ocupando el 50% de la superficie del medio de cultivo en presencia del patógeno (figura 3, figura 5).



**Figura 5.** Micoparasitismo de *Trichoderma* spp. contra *P. cinnamomi.* (A) cepa de *Trichoderma* spp. C1OVLIMB el cual se observa hifa penetrando a *P. cinnamomi* (B) cepa de *Trichoderma* spp. C5CHLIMB enrollando a *P. cinnamomi*.

# Identificación molecular de Trichoderma spp.

El resultado obtenido a partir del análisis de las secuencias demostró que las cepas C1OVLIMB, C3O-VLIMB, C4OVLIMB, C3CHLIMB, C2CHLIMB fueron identificadas como *Trichoderma harzianum*, mientras que C1CHLIMB, C5CHLIMB, C4 CHLIMB, C2OVLIMB, C4OVLIMB fueron identificadas como *Trichoderma viride* con un producto esperado de 1200 pb (figura 6).

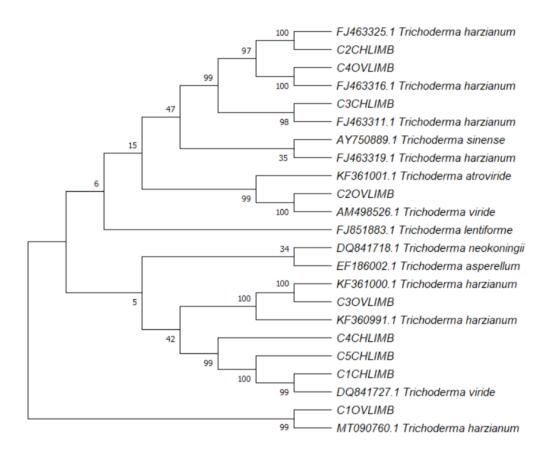


Figura 6. Dendograma a partir de las secuencias del gen tef1 de Trichoderma spp. vereda Salitral, municipio de Ovejas (OV), vereda el Limón, municipio de Chalán (CH) departamento de Sucre.

Los caracteres taxonómicos juegan un papel importante al momento de identificar las especies de *Trichoderma*, pero muchas veces esta identificación puede ser subjetiva y muy dificultosa, ya que caracteres como conidios y conidióforos entre otros, son muy parecidos entre las especies, lo que ha ocasionado que haya un bajo número de especies identificadas morfológicamente en comparación a las que han sido identificadas filogenéticamente a partir de secuencias de DNA. Así mismo, el análisis morfológico es muy propenso a cometer errores y como consecuencia se podrían tener cepas de *Trichoderma* spp. mal identificadas en colecciones de cultivos de microorganismos (Umaña et al., 2019; Filizola et al., 2019; Sood et al., 2020).

Las herramientas moleculares se han convertido en una alternativa más precisa para la identificación de especies. Gracias a primers específicos se pueden diferenciar especies que son aisladas de diferentes ecosistemas, sin embargo, hay primers que son más específicos que otros. Diversos estudios han utilizado primers específicos para la región ITS1 e ITS2 pero estas regiones han presentado inconvenientes para identificar especies de *Trichoderma*, incluso pueden dar lugar a varios resultados de identificación para un mismo aislado, por tal razón

el gen tef1 se caracteriza por ser una región por presentar una alta variabilidad intraespecífica (Maniscalco y Dorta, 2015; García et al., 2018; Fanelli et al., 2018).

Muchas de las especies de *Trichoderma* tienen una gran versatilidad al momento de competir por espacio, nutrientes, producción de metabolitos secundarios y micoparasitismo (Inglis *et al.*, 2020; Kredics *et al.*, 2018). Lo expuesto anteriormente es confirmado por Sánchez *et al.* (2019) donde demuestran que diferentes especies de *Trichoderma* presentaron inhibición contra *Phytophthora rosacearum*, *P. inundata*, *P. lacustris*, *P. cactorum*: en todos los casos se observó bajo microscopio electrónico el enrollamiento de *Trichoderma* spp.

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con varias investigaciones que demuestran la inhibición mediante micoparasitismo de *T. harzianum* y *T. viride* contra diferentes especies de *Phytophthora* (Ezziyyani *et al.*, 2005; Kredics *et al.*, 2018; Belisle *et al.*, 2019). Por ejemplo, en un estudio realizado por Braun *et al.*, (2018) acerca del proceso de inhibición de *T. harzianum* contra hongos generadores de micotoxinas, demostraron que esta especie puede actuar como micoparásito y liberar enzimas hidrolíticas como quitinasas y lacasas que tienen la capacidad de poder desintegrar la pared celular del patógeno, indicando que esta especie es considerada un buen control biológico *in vitro*. Así mismo, Kuzmanovska *et al.* (2018) evaluaron las especies de *Trichoderma asperellum* y *T. harzianum* contra *Botrytis cinerea*, uno de los principales patógenos que ataca al cultivo de tomate. Los resultados demostraron que *T. harzianum* y *T. asperellum* presentaron inhibición contra patógeno *in vitro*, tanto micelial como germinación conidial, demostrando que estas dos especies son agentes de control biológico para el control de la enfermedad del moho gris en el tomate.

El-Sharkawy et al. (2018) realizaron una combinación de micorrizas arbusculares con *T. harzianum* y *T. viride* con el fin de controlar la enfermedad de la roya del tallo en plantas de trigo ocasionado por *Puccinia graminis*. Los resultados obtenidos confirmaron que en condiciones de invernadero la combinación de micorrizas arbusculares con las dos especies de *Trichoderma* redujo la enfermedad, e indujo la producción de las enzimas peroxidasas y polifenol oxidasa y, a su vez, aumentó el contenido total de fenol y mejoró los parámetros de crecimiento.

T. viride ha demostrado ser un hongo con la capacidad de ejercer actividad inhibitoria contra P. cinnamomi (Hoyos et al., 2019; Abdel et al., 2019; Shafique et al., 2019) debido a que tienen la capacidad de inducir la producción de enzimas específicas como polifenol oxidasa, quitinasas y glucanasas en plántulas de maní que se encuentran infectadas contra Aspergillus niger (Gajera et al., 2015). Así mismo, Andrade-Hoyos et al. (2019) determinaron el potencial antagónico in vitro de Trichoderma harzianum, T. asperellum y T. viride provenientes de la rizosfera de aguacate contra Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum y Phytophthora capsici. Los resultaron confirmaron que las especies de Trichoderma spp. fueron eficiente para controlar el crecimiento de los patógenos in vitro. De igual forma, Nawaz et al. (2018) afirman que la aplicación de Trichoderma viride y T. harzianum mostraron una inhibición 85,5 % del crecimiento micelial de P. capsici, mientras que en condiciones de invernadero ambas especies de Trichoderma suprimieron significativamente la severidad de la podredumbre de la raíz, lo que favoreció el crecimiento del sistema radicular y biomasa vegetal.

Por otra parte, la inoculación de *T. viride* en plántulas de menta tuvo la capacidad de colonizar con mayor rapidez el sistema radicular de planta con el fin de promover su crecimiento, induciendo además una alta concentración de aceites esenciales en comparación con las plántulas sin inocular (Velmourougane *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2020; He *et al.*, 2020; Jakovljevic, 2020). A su vez, la aplicación de *Trichoderma* spp. puede aumentar la eficiencia de la captura de nutrientes lo que favorece al crecimiento de la planta y brindar protección contra patógenos.

# **CONCLUSIONES**

En este estudio, los hongos *Trichoderma viride* y *T. harzianum* presentaron un efecto antagónico significativo contra el crecimiento in vitro de *P. cinnamomi* causante de la marchitez radicular en plantaciones de aguacate

de los Montes de María. Estas dos especies presentan diversos mecanismos para el control de patógenos, lo que las convierte en alternativas biológicas para el manejo y control de enfermedades en cultivos de interés económico. Además, por su rápido crecimiento pueden ser bioaumentadas en sustrato de arroz precocido para luego ser aplicados como bioproductos a cultivos de aguacate que se encuentran afectados por la enfermedad.

# **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen al Programa de Colombia Científica "Reconstrucción del tejido social en zonas de pos-conflicto en Colombia" Código SIGP: 57579 con el proyecto de investigación "Competencias empresariales y de innovación para el desarrollo económico y la inclusión productiva de las regiones afectadas por el conflicto Colombiano" Código SIGP: 58907. Financiado en el marco de la convocatoria Colombia Científica, Contrato Nº FP44842-213-2018.

## REFERENCIAS

- ABDEL-MARETH, T.; EL-HAGRASSI, A.; ABDEL-AZIZ, M.; NASR, S.; GHAREEB, M. Biological activities of endozoic fungi isolated from Biomphalaria alexandrina snails maintained in different environmental conditions. International Journal of Environmental Studies, v. 76, n. 5, 2019, p. 780-799.
- https://doi.org/10.1080/00207233.2019.1620535
- ACURIO, RAMIRO; ESPAÑA, CINTHIA. Aislamiento, caracterización y evaluación de Trichoderma spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (Trifolium repens). LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida, v. 25, n. 1, 2017, p. 53-61. https://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05
- AGUILERA, MARIA. Montes de María: una subregión de economía campesina y empresarial. Documentos de Trabajo Sobre Economía Regional y Urbana. 1 ed. Cartagena (Colombia): Banco de la Republica, 2013, 31 p. https://doi.org/10.32468/dtseru.195
- ANDRADE-HOYOS, P.; LUNA-CRUZ, A.; OSORIO-HERNÁNDEZ, E.; MOLINA-GAYOSSO, E.; LANDERO-VALENZUELA, N.; BARRALES-CUREÑO, H. Antagonismo de Trichoderma spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. Revista mexicana de ciencias agrícolas, v. 10, n. 6, 2019, p. 1259-1272.
- https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326
- ARAÚJO, RAFAEL; RODRIGUEZ, ROSA; RUIZ, HECTOR; AGUILAR, CRISTOBAL. Avocado by products: Nutritional and functional properties. Trends in Food Science & Technology, v. 80, 2018, p. 51–60. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027
- ARIAS, CAROLINA; MOORS, M. Reducing post-harvest food losses through innovative collaboration: Insights from the Colombian and Mexican avocado supply chains. Journal of Cleaner Production, v. 199, 2018, p. 1020–1034.
- https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.187
- BAIYEE, B.; ITO, S.; SUNPAPAO, A. Trichoderma asperellum T1 mediated antifungal activity and induced defense response against leaf spot fungi in lettuce (*Lactuca sativa L.*). Physiological and Molecular Plant Pathology, v. 106, 2019, p. 96-101.
  - https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.12.009
- BARNETT, H.; HUNTER, B. Illustrated genera of imperfect fungi. 4 ed. Virginia (USA): American Phytopathological Society, 1998, p. 14-25.
- BELISLE, RODGER; MCKEE, BRANDON; HAO, WEI; CROWLEY, MARGARET; ARPAIA, MARY; MILES, TIMOTHY; MANOSALVA, PATRICIA. Phenotypic characterization of genetically distinct Phytophthora cinnamomi isolates from avocado. Phytopathology, v. 109, n. 3, 2019, p. 384-394. https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-17-0326-R

- BRAUN, H.; WOITSCH, L.; HETZER, B.; GEISEN, R.; ZANGE, B.; SCHMIDT-HEYDT, M. *Trichoderma harzianum*: Inhibition of mycotoxin producing fungi and toxin biosynthesis. International Journal of Food Microbiology, v. 280, 2018, p. 10–16.
  - https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.021
- BURBANO-FIGUEROA, OSCAR. Sistemas agroforestales de aguacate antillano en Montes de María (Colombia): un modelo conceptual del sistema de producción. Revista Chapingo. Serie horticultura, v. 25, n. 2, 2019, p. 75-102.
  - https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2018.09.018
- COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL (MADR). Cifras sectoriales Cadena de Aguacate. Sistema de Gestión y Desempeño de Organizaciones de Cadena-SIOC. Bogotá. 2019. [en línea]. Disponible en:https://sioc.minagricultura.gov.co/Aguacate/Documentos/2019-09 30%20 Cifras%20Sectoriales.pdf. [Accedido: 25-oct-2020].
- CHAÑAG, HAROLD; ÁLVAREZ, SANDRA; LAGOS, LUZ; BURBAN-DAVID, DIANA. Sensibilidad de aislamientos de Phytophthora infestans procedentes de *Solanum tuberosum* a tres fungicidas sistémicos. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, v. 12, n. 3, 2018, p. 592-601. https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i3.7859
- DE OLIVEIRA, CAMILLA; ALMEIDA, NAYANE; CORTES, MARCIO; JUNIOR, MARCIO; DA ROCHA, MARA; ULHOA, CIRANO. Biological control of Pratylenchus brachyurus with isolates of Trichoderma spp. on soybean. Biological Control, v. 152, 2020, p. 104-425. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104425
- DÍAZ, MARIA. La economía de los Montes de María. 1ed. Cartagena (Colombia): Economía & Región, 2014, 14 p.
  - https://hdl.handle.net/20.500.12585/9816
- DRUZHININA, IRINA. PCR protocols for amplification of Trichoderma phylogenetic markers. 2009 [en linea]. Disponible en: www. isth.info/ methods/ method.php?methodid=10. [Accedido: 14-sep-2020]
- EL-SHARKAWY, H.; RASHAD-YOUNES, M.; IBRAHIM-SEHAM, A. Biocontrol of stem rust disease of wheat using arbuscular mycorrhizal fungi and Trichoderma spp. Physiological and Molecular Plant Pathology, v. 103, n.1, p. 84-91.
  - https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.05.002
- EZZIYYANI, MOHAMMED; REQUENA, MARÍA; SANCHEZ, CONSUELO; CASTILLO, MARÍA. Efecto del sustrato y la temperatura en el control biológico de Phytophthora capsici en pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología, v. 27, 2005, p.119-126.
- FANELLI, FRANCESCA; LIUZZI, VANIA; LOGRIECO, ANTONIO; ALTOMARE, CLAUDIO. Genomic characterization of Trichoderma atrobrunneum (*T. harzianum* species complex) ITEM 908: insight into the genetic endowment of a multi-target biocontrol strain. BMC genomics, v. 19, n. 1, 2018, p. 662. https://doi.org/10.1186/s12864-018-5049-3
- FILIZOLA, PATRICIA; LUNA, MARCOS; DE SOUZA, ADRIANA; COELHO, IWANNE; LARANJEIRA, DELSON; CAMPOS-TAKAKI, GALBA. Biodiversity and phylogeny of novel Trichoderma isolates from mangrove sediments and potential of biocontrol against Fusarium strains. Microbial cell factories, v. 18, n. 1, 2019, p. 89.
  - https://doi.org/10.1186/s12934-019-1108-y
- JARAMILLO, GABRIELA. Evaluación in vitro de la capacidad antagónica de Trichoderma spp. frente a Fusarium sp., Alternaria sp. y Phytophthora sp. [Tesis Ingeniera Agrónoma]. Zamorano (Honduras): Escuela Agrícola Panamericana, Facultad de Ciencias y producción Agropecuaria, 2014, 25-38 p.
- GAJERA, H.; SAVALIYA, D.; PATEL, S.; GOLAKIYA, B. Trichoderma viride induces pathogenesis related defense response against rot pathogen infection in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Infection, Genetics and Evolution, v. 34, 2015, p. 314–325.
  - https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.07.003

GAMARRA, MARTAS; OJEDA, MARCO; MALDONADO, GUILLERMO. Identificación molecular y tasa de

crecimiento de cepas nativas de Trichoderma spp. aisladas de la Región Norte del Paraguay. Investigación

- Agraria, v. 19, n. 2, 2018, p. 127-132.
- https://doi.org/10.18004/investig.agrar.2017.diciembre.127-132
  GARCÍA-NUÑEZ, HILDA; MARTINEZ-CAMPOS, ÁNGEL; HERMOSA-PRIETO, MARÍA; MONTE-VASQUEZ, ENRIQUE; AGUILAR-ORTIGOZA, CARLOS; GONZALEZ-ESQUIVEL, CARLOS. Morphological and molecular characterization of native isolates of Trichoderma and its potential biocontrol against Phytophthora infestans. Revista Mexicana de Fitopatología, v. 35, n. 1, 2018, p. 58-79.
- GUO, KAI; SUI, YONGHUI; LI, ZHE; HUANG, YANHUA; WANG, WENWEN. Colonization of Trichoderma viride Tv-1511 in peppermint (*Mentha* × *piperita* L.) roots promotes essential oil production by triggering ROS-mediated MAPK activation. Plant Physiology and Biochemistry, v. 1, n. 1, 2020, p. 12-19. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.03.042
- HARDHAM, R.; BLACKMAN, M. *Phytophthora cinnamomi*. Molecular Plant Pathology, v. 19, n. 2, 2018, p. 260-285.
  - https://doi.org/10.1111/mpp.12568

https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1605-4

- HE, C.; WANG, W.; HOU, J. Plant performance of enhancing licorice with dual inoculating dark septate endophytes and *Trichoderma viride* mediated via effects on root development. BMC Plant Biology, v. 20, n. 1, 2020, p. 325.
  - https://doi.org/10.1186/s12870-020-02535-9
- HOYOS, PETRA; LUNA-CRUZ, ALFONSO; HERNANDEZ, EDUARDO; GAYOSSO, EDUARDO; VALENZUELA, NADIA; CUREÑO, HEBERT. Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. Revista mexicana de ciencias agrícolas, v.10, n. 6, 2019, p. 1259-1272. https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326
- INGLIS, PETER; MELLO, SUELI; MARTINS, IRENE; SILVA, JOAO; MACEDO, KAMILLA; SIFUENTES, DANIEL; VALADARES-INGLIS, M. Trichoderma from Brazilian garlic and onion crop soils and description of two new species: *Trichoderma azevedoi* and *Trichoderma peberdyi*. PloS one, v. 15, n. 3, 2020, p. 228-485. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228485
- JAKOVLJEVIC, VIOLETA. Synergistic effect of Fusarium lateritium LP7 and Trichoderma viride LP5 promotes ethoxylated oleyl-cetyl alcohol biodegradation. Journal of Environmental Science and Health, v. 55, n. 4, 2020, p. 438-447.
  - https://doi.org/10.1080/10934529.2019.1706334
- KUZMANOVSKA-BILJANA, R.; RUSEVSKI-RADE, A.; JANKULOVSKA-MIRJANA, Y.; ORESHKOVIKJ-KATERINA, B. Antagonistic activity of *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma harzianum* against genetically diverse *Botrytis cinerea* isolates. Chilean journal of agricultural research, v. 78, n. 3, p. 391-399. https://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392018000300391
- KREDICS, LASZLO; CHEN, LIQIONG; KEDVES, ORSOLYA; BüCHNER, RITA; HATVANI, LORANT; ALLAGA, HENRIETTA; VÁGVÖLGYI, CSABA. Molecular Tools for Monitoring *Trichoderma* in Agricultural Environments. Frontiers in microbiology, v. 9, 2018, p. 15-99. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01599
- MACÍAS-RODRÍGUEZ, LOURDES; CONTRERAS-CORNEJO, HEXON; ADAME-GARNICA, SANDRA; DEL-VAL, EK; LARSEN, JOHN. The interactions of *Trichoderma* at multiple trophic levels: inter-kingdom communication. Microbiological Research, v. 19, 2020, p.126-552. https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126552
- MAMANI, JACKELINE. *Pseudomonas* de rizósfera de palto (*Persea americana* Mill.) con actividad biocontrolodara de *Phytophthora cinnamomi* Rands, aisladas en costa central del Perú [Ph.D tesis de ingeniero agrónomo]. Lima (Perú): Universidad Nacional Agraria la Molina, Facultad de Ciencias Agrarias, 2017, 27 p.
- MANISCALCO, DOMENICO; DORTA, BLAS. Diversidad del hongo *Trichoderma* spp. en plantaciones de maíz de Venezuela. Interciencia, v. 40, n. 1, 2015, p. 23-31.

- MANZAR, NAZIA; SINGH, YOGENDRA; KASHYAP, ABHIJEET; SAHU, PRAMOD; RAJAWAT, MAHENDRA; BHOWMIK, ARPAN; SAXENA, ANIL. Biocontrol potential of native *Trichoderma* spp. against anthracnose of great millet (*Sorghum bicolour* L.) from Tarai and hill regions of India. Biological Control, v. 152, 2020, p. 104-474.
  - https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104474
- MARTÍNEZ, B.; REYES, YUSIMY; INFANTE, DANAY; GONZÁLEZ, E. BAÑOS, HEYKER; CRUZ, A. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. Revista de Protección Vegetal, v. 23, n. 2, 2008, p.118-125.
- MARTÍNEZ, STEVENS; BANQUETH, HERMES DE JESÚS; VITOLA, FRANK; GÓMEZ, JORGE; PUENTES, MARÍA. Diversidad de briófitos en los Montes de María, Colosó (Sucre, Colombia). Colombia Forestal, v.19, n. 1, 2016, p. 41-51.
  - https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2016.1.a03
- MASIKANE, S.; JOLLIFFE, J.; MCLEOD, A. Novel approaches and methods for quantifying *Phytophthora cinnamomi* in avocado tree roots. FEMS microbiology letters, v. 366, n. 16, 2019, p. 199. https://doi.org/10.1093/femsle/fnz199
- NAWAZ, KIRAN; SHAHID, AHMAD; BENGYELLA, LOUIS; ALI, MUHAMMAS; ANWAR, WAHEED; ALI, SHINAWAR. Diversity of *Trichoderma* species in chili rhizosphere that promote vigor and antagonism against virulent *Phytophthora capsici*. Scientia Horticulturae, v. 239, 2018, p. 242-252. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.048
- NUGRA, ARACELY. Evaluación de sustratos orgánicos para la propagación de *Trichoderma* spp. [Tesis en Ingeniería en Biotecnología de los recursos naturales]. Cuenca (Ecuador): Universidad Politécnica Selesiana, Facultad de Ingeniera en Biotecnología, 2018, 20-30 p.
- OLEA, ANDRES; ESPINOZA, LUIS; SEDAN, CLAUDIA; THOMAS, MARIO; DIAZ, KATY. Synthesis and in *vitro* growth inhibition of 2-allylphenol derivatives against *Phythopthora cinnamomi* rands. Molecules, v. 24, n. 22, 2019, p. 41-96.
  - https://doi.org/10.3390/molecules24224196
- OSORIO-ALMANZA, LORENA. Distribución espacial del riesgo potencial de marchitamiento del aguacate causado por *Phytophthora cinnamomi* en la subregión de Montes de María, Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, v. 11, n. 2, 2017, p. 273-285. http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2017v11i2.7329
- PUELLO, ARMANDO. La transformación de la estructura productiva de los Montes de María: de despensa agrícola a distrito minero-energético. Memorias. Revista Digital de Historia y Arqueología desde el Caribe, v. 29, 2016, p. 52-83.
- RAJANI, P.; RAJASEKARAN, C.; VASANTHAKUMARI, M.; OLSSON, S.; RAVIKANTH, G.; SHAANKER, R. Inhibition of plant pathogenic fungi by endophytic *Trichoderma* spp. through mycoparasitism and volatile organic compounds. Microbiological Research, v. 242, 2020, p. 126-595. https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126595
- RAMIREZ, JOAQUIN; MORALES, JUAN; PETERSON, A. Potential geography and productivity of "Hass" avocado crops in Colombia estimated by ecological niche modeling. Scientia Horticulturae, v. 237, 2018, p. 287–295.
  - https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.021
- SÁNCHEZ-AXIA, D.; OUSSET-MARIA, J.; SOSA M, C. Biological control of *Phytophthora* collar rot of pear using regional *Trichoderma* strains with multiple mechanisms. Biological Control, v. 135, n. 1, 2019, p. 124-134. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.05.012
- SARAVANAKUMAR, K.; WANG, S.; DOU, K.; LU, Z.; CHEN, J. Yeast two-hybrid and label-free proteomics based screening of maize root receptor to cellulase of *Trichoderma harzianum*. Physiological and Molecular Plant Pathology, v. 104, 2018, p. 86-94. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.10.002

- SENA, KENTON; YANG, JIAN; DREADEN, TYLER; BARTON, CHRISTOPHER. Landscape variables influence *Phytophthora cinnamomi* distribution within a forested Kentucky watershed. Forest Ecology and Management, v. 436, 2019, p. 39-44.
  - https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.01.008
- SHAFIQUE, SHAZIA; SHAFIQUE, SOBIYA; JAVED, ALINA; AKHTAR, NAUREEN; BIBI, SHUMAILA. Analysis of Antagonistic Potential of Secondary Metabolites and Organic Fractions of *Trichoderma* Species against *Alternaria Alternata*. Biocontrol Sci, v. 24, n. 2, 2019, p. 81-88. https://doi.org/10.4265/bio.24.81
- SOOD, MONIKA; KAPOOR, DHRITI; KUMAR, VIPUL; SHETEIWY, MOHAMED; RAMAKRISHNAN, MATHUSAMY; LANDI, MARCO; SHARMA, ANKET. *Trichoderma*: The "Secrets" of a Multitalented Biocontrol Agent. Plants, v. 9, n. 6, 2020, p. 762. https://doi.org/10.3390/plants9060762
- TENORIO, IFIGENIA. Búsqueda de Resistencia a *Phytophthora capsici Leonian* en Germoplasma de *Capsicum* spp. [Tesis de maestría en Ciencias con énfasis en recursos Fitogenéticos Neotropicales]. Palmira (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2010, 16-34 p.
- YE, TIAN; DIANZHEN, YU; NA, LIU; YAN, TANG; ZHENG, YAN; AIBO, WU. Confrontation assays and mycotoxin treatment reveal antagonistic activities of *Trichoderma* and the fate of *Fusarium* mycotoxins in microbial interaction. Environmental Pollution, v. 267, 2020, p. 115-559. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115559
- UMAÑA-CASTRO, JOUSE; OROZCO-CAYASSO, STEFFANY; UMAÑA-CASTRO, RODOLFO; MOLINA-BRAVO, RAMÓN. Identificación molecular y características fisiológicas de aislamientos de *Trichoderma* para el biocontrol de dos patógenos en la piña. Revista de Ciencias Ambientales, v. 53, n. 1, 2019, p.125-142
  - http://dx.doi.org/10.15359/rca.53-1.7
- VÁZQUEZ, MARÍA; BARRERA, VIVIANA; BIANCHINOTTI, VIRGINIA. Molecular identification of three isolates of *Trichoderma harzianum* isolated from agricultural soils in argentina, and their abilities to detoxify *in vitro* metsulfuron methyl. Botany, v. 93, n. 11, 2015, p. 793-800. https://doi.org/10.1139/cjb-2015-0085
- VELMOUROUGANE, KULANDAIVELU; PRASANNA, RADHA; CHAWLA, GAUTAM; NAIN, LATA; KUMAR, ARUN; SAXENA, ANIL. *Trichoderma-Azotobacter* biofilm inoculation improves soil nutrient availability and plant growth in wheat and cotton. J Basic Microbiology, v. 59, n. 6, 2019, p. 632-644. https://doi.org/10.1002/jobm.201900009
- ZIN, NUR; BADALUDDIN, NOOR. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences, v. 65, n. 2, 2020, p. 168-178. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.003