

## Actividad antagonista de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre aislados de diferentes grupos anastomóticos de *Rhizoctonia solani* Kühn



### Antagonistic activity of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg on isolates of different anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* Kühn

<http://opn.to/a/iMqFE>

Danay Infante Martínez <sup>1\*</sup>, Benedicto Martínez Coca <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Fitopatología, Dirección de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Censa. Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, AP 10, CP 32700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

**RESUMEN:** El trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antagonista *in vitro* de siete cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a aislamientos de *Rhizoctonia solani* Kühn pertenecientes a tres grupos anastomóticos. La capacidad antagonista se determinó evaluando la competencia por espacio (diámetro de las colonias, según escala de Bell *et al.*) y el micoparasitismo (crecimiento de *Trichoderma* sobre las colonias de los patógenos) en cultivo dual. Todas las cepas se ubicaron en la clase 1 de la escala de Bell *et al.*, dado a la alta velocidad de crecimiento de las cepas de *Trichoderma*. El parasitismo estuvo determinado por el grupo anastomótico colonizado; se destacaron, con más de 75 % de parasitismo, las cepas *Ta.13* frente a AG-2.1, *Ta.17*, *Ta.75*, *Ta.78* y *Ta.90* frente a AG-5; y *Ta.85* frente a AG-8. Desde el punto de vista práctico, estos resultados revisten gran importancia debido a que el complejo *R. solani* causa pérdidas económicas considerables en diversos cultivos de interés.

**Palabras clave:** antagonismo, grupos de anastomosis, *R. solani*, *Trichoderma*.

**ABSTRACT:** The objective of the work was to evaluate the antagonistic activity of seven strains of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg against isolates from three anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* Kühn *in vitro*. The antagonistic capacity was determined by evaluating the competition for space (diameter of the colonies, according to the scale by Bell *et al.*) and mycoparasitism (*Trichoderma* growth on the pathogen colonies) in dual culture. All the strains were located in class 1 of the scale by Bell *et al.*, given by the highest growth rate of the *Trichoderma* strains. Parasitism was determined by the colonized anastomosis group, standing out the *Trichoderma* strains *Ta.13* versus AG-2.1; *Ta.17*, *Ta.75*, *Ta.78*, and *Ta.90* against AG-5; and *Ta.85* against AG-8, which overgrew more than 75% (parasitism) the area of the pathogen colonies. From the practical point of view, these results are of great importance because the *R. solani* complex is responsible for considerable economic losses in various crops of interest.

**Keywords:** Antagonism, anastomosis groups, *R. solani*, *Trichoderma*.

Los miembros del complejo *Rhizoctonia* constituyen un grupo heterogéneo de hongos filamentosos que no producen esporas asexuales, pero comparten caracteres morfológicos generales, como la formación de micelio estéril y las estructuras de resistencia denominadas esclerocios (1). Tienen una amplia distribución

mundial y es poco probable que exista un país donde no estén presentes. Poseen una amplia gama de hospedantes, al afectar a más de quinientos géneros de plantas superiores, muchos son patógenos importantes de plantas de interés agrícola, forestal, e incluso de especies acuáticas.

\*Autor de correspondencia: Danay Infante Martínez. E-mail: [danay@censa.edu.cu](mailto:danay@censa.edu.cu)

Recibido: 19/10/2019

Aceptado: 18/03/2019

En posturas, provocan la enfermedad conocida como *damping off*, lesiones necróticas en raíces, semillas, tallos y, en algunos casos, en frutos; por consiguiente, traen considerables pérdidas (2). Otros tienen un comportamiento saprofito y simbiote en especies de orquídeas y musgos (3).

La identificación de las especies dentro del grupo es difícil, ya que tienen pocos caracteres morfológicos y los rasgos fisiológicos y patogénicos varían de un individuo a otro; por lo que su diferenciación se realiza, fundamentalmente, por el número de núcleos y la anastomosis hifal (AG), determinada por la fusión de las células de dos aislamientos (4). En este sentido, los primeros estudios para estos grupos se informaron en las primeras décadas del siglo pasado por Matsumoto en 1921 y Matsumoto *et al.* en 1931, citados por González (1), aplicable tanto a especies multinucleadas como binucleadas.

Dentro del complejo causal, hasta la fecha, se conocen 14 AG de *R. solani*, que se subdividen en subgrupos, nominados del AG1 al AG13, los cuales, de forma general, solo son compatibles con individuos del mismo grupo, aunque el AG-BI incluye aislados capaces de fusionarse entre ellos y con otros grupos (5). Según Chávez Barragán *et al.* (6), los grupos de anastomosis de *R. solani* tienen importancia para el control de los mismos, ya que tienen diferente sensibilidad a la aplicación de químicos. Los grupos AG-2.1, AG-5 y AG-8 de *R. solani* tienen importancia por ser patógenos de diferentes cultivos y entre estos algunos de importancia económica (2). En Cuba, se han informado distintas especies dentro del complejo, correspondientes al género *Ceratohiza* (teleomorfo: *Ceratobasidium* spp., binucleadas) y a *R. solani* (teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris*, multinucleadas). Dentro de este último, se encontraron los grupos AG-3, AG-5, AG-2-IIIB, AG-4HGIII y AG4HGI (7).

El manejo de este hongo es difícil, aun cuando se usan diferentes tácticas para su control. Entre ellas, la aplicación de agroquímicos es fundamental, a pesar de lo costoso y perjudicial que es al medio ambiente. Debido a esto, se ha hecho necesaria la búsqueda e introducción de nuevas alternativas de manejo amigables con el medio. En concordancia con esto, en la

actualidad se investigan cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes mecanismos de acción directa (competencia por sustrato o espacio, antibiosis y el micoparasitismo), que pueden incorporarse al manejo de este fitopatógeno (8). Además, estas cepas podrían tener mecanismos de acción indirecta: estimulantes del crecimiento y desarrollo de las plantas, inductoras de resistencia y de incrementar la tolerancia de la planta ante diferentes estreses (9).

El laboratorio de Micología Vegetal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) dispone de un grupo de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg, identificadas y caracterizadas morfofisiológica, patogénica y molecularmente, que se destacan por su acción biorreguladora sobre diversos agentes causales de enfermedades en arroz (*Oryza sativa* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y soya (*Glycine max* L. Merr.) (10,11,12).

Por lo antes expuesto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto antagonico *in vitro* de siete cepas de *T. asperellum* frente a aislamientos de los grupos anastomóticos de *R. solani* AG-2.1, AG-5 y AG-8.

El trabajo se realizó en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (Langebio) de Guanajuato, México.

Las cepas *Ta.1*, *Ta.13*, *Ta.17*, *Ta.75*, *Ta.78*, *Ta.85* y *Ta.90* de *T. asperellum*, pertenecientes a la colección de hongos del laboratorio de Micología Vegetal del CENSA, se conservaron en placas Petri (90 mm = Ø) contentivas de Agar Malta (AM) (Biocen) e incubadas a temperatura de 28°C±2°C y oscuridad. Mientras que, los aislados de los tres grupos anastomóticos de *R. solani* (AG- 2.1, AG-5 y AG-8), pertenecientes a la colección del Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (Langebio) de Guanajuato, México, se conservaron en Papa Dextrosa Agar (PDA) (Difco), a temperatura de 25°C±2°C y oscuridad.

Para la realización de los experimentos, los cultivos de las cepas del antagonista y de los aislados del patógeno tenían tres y siete días de edad, respectivamente. Se tomaron discos de cinco mm de Ø de estos de la periferia de las colonias para ambos ensayos.

## ANTAGONISMO *IN VITRO* DE LAS CEPAS DE *T. ASPERELLUM* FRENTE A AISLAMIENTOS DE TRES GRUPOS ANASTOMÓSICOS DE *R. SOLANI*

El efecto antagónico de las cepas de *T. asperellum* se evaluó por el método del cultivo dual (CD), según lo descrito por Martínez y Solano (13), frente a los grupos de anastomosis de *R. solani* AG-2.1; AG-5 y AG-8. Se determinaron la competencia por espacio y el micoparasitismo.

### Competencia por espacio

Se sembraron discos (5 mm de Ø) de las cepas de *T. asperellum* y de los aislados del patógeno, diametralmente opuestos a cinco mm del borde de la periferia de la placa Petri (90 mm = Ø), contentivas de medio PDA (Difco). Las placas se incubaron a 25°C±2°C y oscuridad, condiciones requeridas para el crecimiento de los aislados del patógeno. Se realizaron tres réplicas por cepa de *T. asperellum* y se incluyó un control de cada aislamiento de los grupos anastomóticos; estos se sembraron en la misma posición que en el CD (sin el antagonista) y se incubaron en igual condición a la anteriormente descrita. Las evaluaciones se hicieron a partir de las 24 h, dos veces al día (8:00 am y 4:00 pm). Se midió el crecimiento micelial lineal de ambos hongos con una regla graduada, hasta que uno de los dos completara el área de la placa. La capacidad antagónica de *T. asperellum* se valoró mediante la escala de grados de Bell *et al.* (14).

### Micoparasitismo

Para evaluar el efecto parasítico se sembraron discos de cinco mm de Ø de los patógenos antes mencionados en placas Petri (70 mm = Ø) contentivas de PDA (Difco), las que se incubaron a una temperatura de 25°C±2°C y oscuridad, y se dejaron crecer hasta completar el área total de la

placa. Posteriormente, se depositaron discos de igual Ø de las cepas de *T. asperellum* sobre la colonia desarrollada de cada aislamiento del patógeno; se incubaron a una temperatura de 28°C±2°C y oscuridad. Se realizaron dos réplicas para cada cepa de *Trichoderma*.

El parasitismo de las cepas de *T. asperellum* (sobrecrecimiento sobre el patógeno) se evaluó a los cinco días de la siembra del antagonista; para esto se evaluó el área ocupada por este sobre el patógeno, tomando como base la siguiente escala (Tabla 1) que se describe a continuación:

Las cepas ubicadas en los grados 1 y 2 de la escala se consideraron de alto grado parasítico. En cada uno de los casos, se tomaron imágenes como evidencia gráfica con cámara digital (Canon).

## ANTAGONISMO *IN VITRO* DE LAS CEPAS DE *T. ASPERELLUM* FRENTE A AISLAMIENTOS DE TRES GRUPOS ANASTOMÓSICOS DE *R. SOLANI*

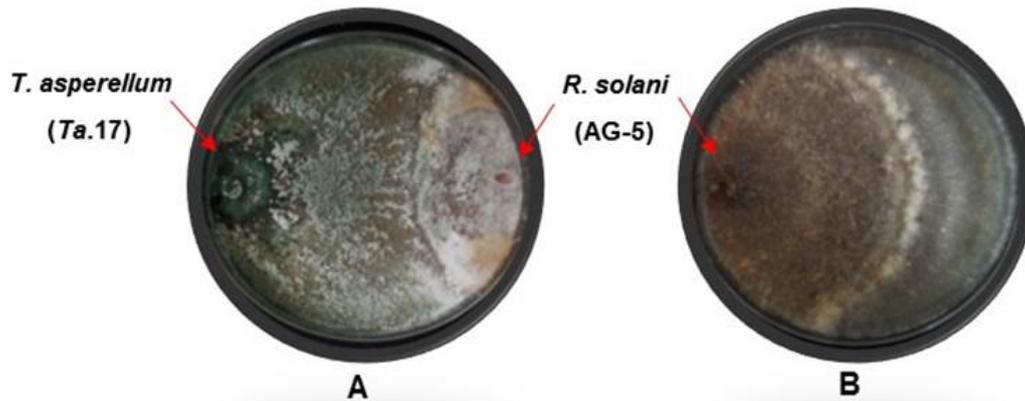
### Competencia por espacio

Las siete cepas de *T. asperellum* tuvieron un crecimiento más rápido que los aislamientos del patógeno; a las 96 h cubrieron el área total de la placa, por lo que se ubicaron en la clase 1 de la escala de Bell *et al.* (14). Además, se pudo evidenciar esporulación de las cepas de *T. asperellum* sobre la colonia de los aislados del patógeno, que afectó su textura y formación de esclerocios (Fig. 1). Esto contribuyó a frenar el crecimiento de los patógenos al compararse con los controles, donde los aislados de los grupos anastomóticos crecieron completamente el área de la placa y hubo presencia de esclerocios.

En todos los casos evaluados se evidenció incremento del área colonizada por *T. asperellum* en el tiempo, comparado con el de los aislados del patógeno; resultados que coinciden con los obtenidos por Siameto *et al.* (15) y Ahmad *et al.*

**Tabla 1.** Escala de grados para la evaluación del parasitismo de las cepas de *T. asperellum* sobre *R. solani*. Degree scale to evaluate parasitism of the strains of *T. asperellum* on *R. solani*

| Grados | Descripción   |
|--------|---|
| -      | <i>Trichoderma</i> sobrecrece más de 75 % del área del patógeno.        |
| -      | <i>Trichoderma</i> se desarrolla entre 51-74 % del área del patógeno.   |
| 3      | <i>Trichoderma</i> se desarrolla entre 25 y 50 % del área del patógeno. |
| -      | <i>Trichoderma</i> se desarrolla 25 % o menos del área del patógeno.    |
| -      | <i>Trichoderma</i> no crece sobre el patógeno (no hubo parasitismo).    |



**Figura 1.** A. Cultivo dual de *T. asperellum* (Ta.17) - *R. solani* (AG-5) y B. Control de *R. solani* (AG-5) a las 96 h / A. Dual culture of *T. asperellum* (Ta.17) - *R. solani* (AG-5) and B. Control of *R. solani* (AG-5) at 96 h

(16). Estos autores evidenciaron que las cepas de *Trichoderma harzianum* Rifai, en condiciones de cultivos duales, crecieron considerablemente más rápido que los patógenos en estudio. También, Caballero *et al.* (17) informaron que *Trichoderma* spp. compite por espacio y nutrientes generando un efecto indirecto de reducción del crecimiento radial del patógeno, al ocupar su espacio y extraer los suministros de nutrientes. Sin embargo, difieren de los de Hoyos-Carvajal *et al.* (18), quienes observaron que, en los primeros tres a cinco días, *Trichoderma* tuvo menor crecimiento que *R. solani*, aunque no especificaron a cuál grupo anastomótico pertenecía dicho aislamiento. No obstante, el antagonista logró crecer y esporular sobre la colonia del patógeno al noveno día.

Los resultados del estudio concuerdan con los obtenidos por diferentes autores, quienes encontraron crecimiento de *Trichoderma* encima de las colonias del patógeno, ubicándose en el grado 1 de la escala. En este sentido, Bell *et al.* (14) informaron grado 1 para diferentes aislados de *Trichoderma* spp. frente a los grupos AG-3 y AG-2 de *R. solani*. También, Reyes *et al.* (19) ubicaron a más de 47 aislados de *Trichoderma* spp. en la clase 1 y 2 de la Escala de grado, lo que expresa el gran potencial de competencia de estos antagonistas, dado fundamentalmente por su alta velocidad de crecimiento, superior a la del patógeno. Estos autores encontraron, además, que todos los aislados de *Trichoderma* spp. manifestaron inhibición de *Rizoctonia* a las 96 h, momento en que *Trichoderma* había colonizado el área ocupada por el patógeno. Más

recientemente, Sánchez-García *et al.* (20) informaron grado 1 para el enfrentamiento entre *Trichoderma* y *R. solani*.

Lo anterior permite plantear que el antagonismo entre microorganismos dependerá de la acción del antagonista, producción de enzimas extracelulares, correspondientes a la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados.

La competencia por el sustrato, como modo de acción antagónico en *Trichoderma*, es un elemento a considerar, ya que al colonizar con mayor rapidez la zona de la rizosfera y los espacios de suelo, en general, limita la proliferación del hongo patógeno (21,22).

### Micoparasitismo

Las cepas de *Trichoderma* mostraron diferencias en su capacidad de sobrecrecer sobre cada aislado de los grupos de anastomosis de *Rhizoctonia* (Fig. 2); el grupo AG-5 fue el más afectado. Se destacan con más de 75 % de sobrecrecimiento (parasitismo) sobre el área de las colonias del patógeno, las cepas Ta.13 frente a AG-2.1; Ta.17, Ta.75, Ta.78, y Ta.90 frente a AG-5. También, las cepas con grado 2 se consideran con buen parasitismo (entre 51-74 % del área del patógeno). De manera general, el aislado del grupo AG-8 fue el que tuvo menor área parasitada por las cepas de *T. asperellum*; no obstante, se debe destacar que Ta.85 sobrecreció en más de 75 % del área del aislado, Ta.17 más de 50 % y Ta.90 50 % del área ocupada por el patógeno (Tabla 2).

En este trabajo se evidenció la variabilidad y la alta especificidad de *Trichoderma* por su

hospedante. Por otro lado, se demostró que el antagonista es altamente selectivo, difiriendo inclusive en su efectividad biocontroladora, aun siendo de la misma especie. Estos resultados son similares a los obtenidos por Hoyos-Carvajal *et al.* (18), quienes observaron efectivo control de *R. solani* con la cepa T-109 de *T. asperellum*, pero no con la T-71 de esta misma especie.

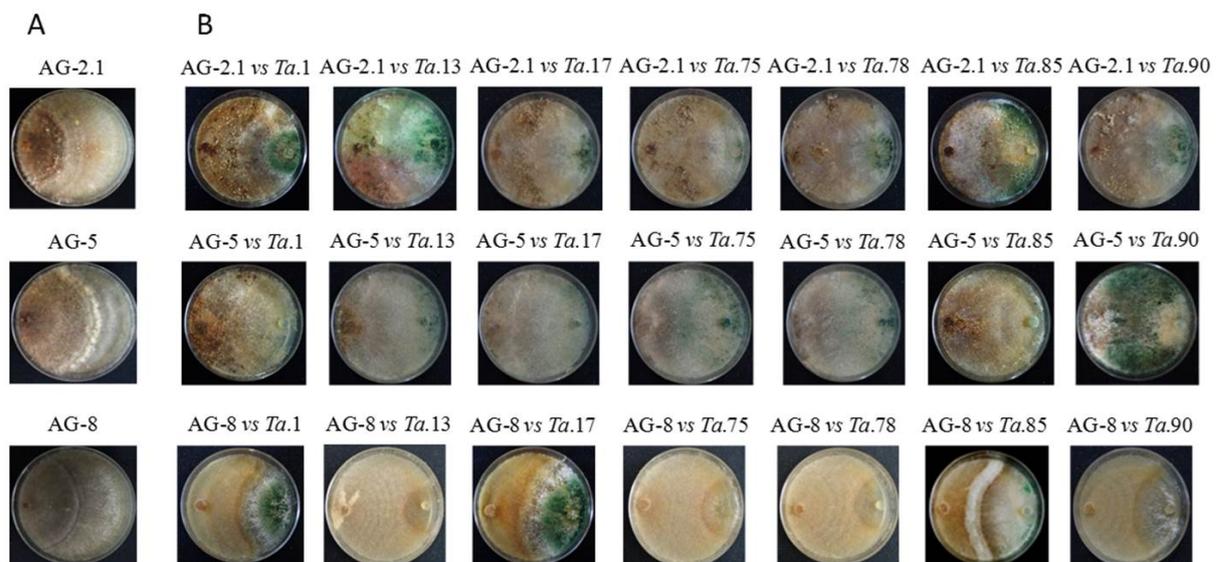
Una razón de estos fenómenos de especificidad pueden ser las interacciones bioquímicas entre hongos. En sus estudios, Elad *et al.* (1983) y Goldman *et al.* (1994), citados por Hoyos-Carvajal *et al.* (18), aislaron una lectina de las hifas y del filtrado del cultivo en medio líquido de *R. solani*, y una galactosa de las paredes de la célula de *Trichoderma* spp., proveniente de la aglutinación de esta lectina. De ambos estudios se pudo concluir que la lectina presente en las hifas de *R. solani* se une a los residuos de galactosa en las paredes de la célula de *Trichoderma* spp. y da inicio a la acción micoparasítica sobre el fitopatógeno.

El micoparasitismo causado por *Trichoderma* se inicia cuando las hifas de *Trichoderma* entran en contacto con las del hospedante y se forman apresorios relacionados con la penetración en la célula de este último. En la mayoría de los casos las paredes celulares se degradan por enzimas y

esto depende más del aislamiento que de la propia especie. El micoparasitismo culmina con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula hospedante, donde el citoplasma restante está rodeando a las hifas invasoras y se muestran síntomas de disgregación (23). Los cambios estructurales visibles (desintegración) en las colonias de los grupos de anastomosis de *R. solani*, por la acción de las cepas de *T. asperellum*, pudieran atribuirse a la acción de metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas excretadas por el antagonista al medio, las que actúan debilitando las paredes del patógeno y provocan su desintegración, aspecto que se evidencia en el presente ensayo.

A pesar de que existe abundante información acerca de la acción biorreguladora de las especies de *Trichoderma* sobre varios hongos fitopatógenos (24), en la práctica es fundamental realizar una selección exhaustiva del agente controlador frente a cada patógeno diana, antes de ser usado en condiciones de campo (24).

El estudio *in vitro* de los modos de acción presentes en los aislamientos del biorregulador constituye la base de la selección de estos para lograr mayor estabilidad y eficacia en los resultados de campo.



**Figura 2.** Parasitismo de las cepas de *T. asperellum* sobre los grupos de anastomosis de *R. solani*. A) Grupos de anastomosis sin *Trichoderma*. B) Sobrecrecimiento de las colonias de *T. asperellum* sobre las colonias de los aislados de los grupos de anastomosis de *R. solani* / Parasitism of the *T. asperellum* strains against anastomosis groups of *R. solani*. A) Anastomosis groups without *Trichoderma*. B) Growth of the *T. asperellum* colonies on colonies of anastomosis group isolates of *R. solani*

**Tabla 2.** Parasitismo de las cepas de *T. asperellum* sobre los aislados de los grupos anastomóticos de *R. solani* / Parasitism of *T. asperellum* strains against anastomosis group isolates of *R. solani*

| Cepas de <i>T. asperellum</i> | Grados según la escala |      |      |
|-------------------------------|------------------------|------|------|
|                               | AG-2.1                 | AG-5 | AG-8 |
| <i>Ta.</i> 1                  | 2                      | 2    | 3    |
| <i>Ta.</i> 13                 | 1                      | 2    | 4    |
| <i>Ta.</i> 17                 | 3                      | 1    | 2    |
| <i>Ta.</i> 75                 | 3                      | 1    | 3    |
| <i>Ta.</i> 78                 | 3                      | 1    | 3    |
| <i>Ta.</i> 85                 | 2                      | 3    | 1    |
| <i>Ta.</i> 90                 | 2                      | 1    | 3    |

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Alfredo Herrera Estrella, por su colaboración durante la estancia en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (Langebio) a su cargo, en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav) del Instituto Politécnico Nacional (IPN), a través de una beca otorgada por la SEP. Además, por permitir la realización del presente estudio, con los diferentes grupos anastomóticos depositados en la colección de su laboratorio.

### REFERENCIAS

- González M. Aspectos de sistemática y biología del complejo *Rhizoctonia* Fitosanidad. 2008; 12 (3):147-159.
- González García V, Portal Onco MA, Rubio Susan V. Review. Biology and systemics of the form genus *Rhizoctonia*. Spanish J. Agric. Res. 2006; 4:55.
- Cubeta MA, Vilgalys R. Population Biology of the *Rhizoctonia solani* Complex. *Phytopathology*. 1997; 87(4): 480-484, *Rhizoctonia*, *Encyclopedia of Microbiology*, Academic Press. 2000; 4:109-117.
- Monte E, Suárez MB. Muerte de plántulas, en enfermedades de las plantas causadas por hongos y oomycetes: naturaleza y control integrado, eds. R. M Jiménez Díaz y E. Montesinos Seguí. *Phytoma*. 2010; 115-133 p.
- Mayo Prieto S. Evaluación de *Trichoderma* spp. en el control biológico de *Rhizoctonia solani* y la respuesta defensiva en plantas de alubia pertenecientes a la IGP "Alubia la Bañeza León". (Tesis presentada en Opción al
- Grado Científico de Doctor en Ingeniería de Biosistemas(. Departamento de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad. Universidad de León, México. 2017.
- Chávez Barragán JR, Hernández Castillo FD, Morales GG, Rodríguez Herrera R. Susceptibilidad al Pencycuron, de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn colectados en ocho regiones paperas de México. *Rev. Agraria-Nueva Época*. 2011; 8(3):18-24.
- González García M, Ramos Ramos E, Chacón Chacón O, Fernández Morales A, Ramírez Ochoa R. Determinación de Grupos de anastomosis de *Rhizoctonia* spp. por comparación de secuencias de la región ITS del ADNr nuclear. *Fitosanidad*. 2009; 13(1):40.
- Osorio HE, Hernández CFD, Rodríguez HR, Varela FSE, Estrada DB, López SJA. Actividad antagónica de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia solani* in vitro. *Investigación y Ciencia*. 2019; 24(67):5-11.
- Hoyos-Carvajal L, Cardona A, Osorio W, Orduz S. Efecto de diversos aislamientos de *Trichoderma* spp. en la absorción de nutrientes en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo. *Rev. Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 2015; 9(2):268-278.
- Infante D, González N, Reyes Y, Martínez B. Evaluación de la efectividad de doce cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels sobre tres

- fitopatógenos en condiciones de campo. Rev. Protección Veg. 2011; 26(3):194-197.
11. Infante D, Reyes Y, Peteira B, Martínez B. Variabilidad fisiológica y patogénica de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg. Métodos en Ecología y Sistemática. 2015; 10(3):41-52.
  12. Cruz A, Rivero D, Echevarría A, Infante D, Martínez B. *Trichoderma asperellum* en el manejo de hongos fitopatógenos en los cultivos de arroz (*Oryza sativa* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y soya (*Glycine max* L.). Rev. Protección Veg. 2015; 30 (supl.1):87.
  13. Martínez B, Solano T. Antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria solani* (Ellis & Martin) Jones y Grout. Rev. Protección Veg. 1995; 10(3):221-225.
  14. Bell K, Wells D, Markham R. In vitro antagonismo of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology. 1982; 72:379-382.
  15. Siameto EN, Okoth S, Amugune NO, Chege NC. Molecular Characterization and Identification of Biocontrol isolates of *Trichoderma harzianum* from Embu district, Kenya. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 2011; 13(1):81-90.
  16. Ahmad I, Bhagat S, Kumar K, Birah A, Tripathi A K, Madhuri K, et al. PCR-RFLP marker based DNA amplified fragments and diversity assessment of *Trichoderma* spp. from Andaman and Nicobar Islands. Jour. Mycopathological Research. 2012; 50(1):55-59.
  17. Caballero AJ, Pocasangre LE, Casanoves F, Avelino J, Tapia AC, Ortiz JL. Uso de aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp. para el biocontrol del *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense (Mal de Panamá) raza 1 en vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) en condiciones de invernadero. Universitas. 2013; 4(1):71-82.
  18. Hoyos-Carvajal L, Chaparro P, Abramsky M, Chet I, Orduz S. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. Rev. Agronomía Colombiana. 2008; 26(3):451-458.
  19. Reyes Y, Martínez B, Infante D. Evaluación de la actividad antagonica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. Rev. Protección Veg. 2008; 23(2):112-117.
  20. Sánchez-García BM, Espinosa-Huerta E, Villordo-Pineda E, Rodríguez-Guerra R, Mora-Avilés MA. Identificación molecular y evaluación antagonica in vitro de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos de raíz en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Montcalm. Agrociencia. 2017; 51:63-79.
  21. Kūçük Ç, Kivanç M. In vitro antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum*. Turk J. Biol. 2004; 28:111-115.
  22. Guédez C, Cañizalez L, Castillo C, Olivar R. Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 2012; 32:44-49.
  23. Martínez B, Infante D, Reyes Y. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev. Protección Veg. 2013; 28(1):1-11.
  24. Ibarra-Medina A, Ferrera-Cerrato R, Alarcón A, Lara-Hernández E, Valdez-Carrasco M. Isolation and screening of *Trichoderma* strains antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotinia minor*. Ver. Mexicana de Micología. 2010; 31:53-63.

Los autores de este trabajo declaran no presentar conflicto de intereses.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)