

Antagonismo de especies de *Trichoderma* contra fitopatógenos que causan pudrición radical en cultivos de chile

Antagonism of *Trichoderma* species against plant pathogens causing Root rot of pepper

Edel Torres-Torres¹,
 César Guigón-López^{1*},
 Luisa Patricia Uranga-Valencia¹,
 Sergio Guerrero-Morales¹

¹Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales. Km 2.5 Carretera Delicias a Rosales, Campus Delicias. CP. 33000. Cd. Delicias, Chih, México.

*Autor de correspondencia:
 cguigon@uach.mx

Artículo científico

Recibido: 29 de enero 2023

Aceptado: 01 de diciembre 2023

Como citar: Torres-Torres E, Guigón-López C, Uranga-Valencia LP, Guerrero-Morales S (2023) Antagonismo de especies de *Trichoderma* contra fitopatógenos que causan pudrición radical en cultivos de chile. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* Núm. Esp. III: e3610. DOI: 10.19136/era.a10nIII.3610

RESUMEN. El cultivo del chile tiene un alto valor de producción en México y es uno de los principales productos hortícolas. La marchitez es la principal enfermedad del cultivo, causada por los fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. y *Phytophthora capsici*. El manejo de la enfermedad es insatisfactorio a la fecha, por ello, el objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad antagónica *in vitro* de aislamientos nativos de *Trichoderma asperellum*, *T. yunnanense*, *T. brevicompactum* y *T. simmonsii* frente a los tres agentes que causan la pudrición radical. En laboratorio se determinó el crecimiento de cada fitopatógeno cuando fueron colocados en confrontación dual, en pruebas de compuestos solubles (CS) por el método de película de celofán y en pruebas de compuestos orgánicos volátiles (COV). El análisis estadístico indicó que en confrontación directa las cuatro especies inhibieron más a *R. solani* (52 a 75%) y a *P. capsici* (64 a 69%); a *Fusarium* sp, solo de 19 a 47%. Los CS de *T. brevicompactum* ejercen un mayor control sobre *R. solani* con valores de 64%. Los CS de *T. simmonsii* inhibieron 34% a *P. capsici*. Los COVs que produce *T. yunnanense* afectan el crecimiento de *R. solani* más de 60%. Los de *T. simmonsii* y *T. brevicompactum* mayormente a *P. capsici* (34-35%). La participación de los CS y COVs en la inhibición varía dependiendo de la especie de *Trichoderma* y de la especie fitopatógena. Finalmente, las especies biocontroladoras nativas tienen el potencial para convertirse en una alternativa de solución de las pudriciones radicales.

Palabras clave: *Capsicum annuum*, enfermedades de la raíz, biocontrol, antagonismo, antibiosis.

ABSTRACT. The pepper crop has a high production value in Mexico and is one of the main horticultural products. Wilt is the main crop disease, caused by the phytopathogens *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. and *Phytophthora capsici*. The management of the disease is unsatisfactory to date, therefore, the objective of this research was to evaluate the *in vitro* antagonistic capacity of native isolates of *Trichoderma asperellum*, *T. yunnanense*, *T. brevicompactum* and *T. simmonsii* against the three agents that cause root rot. In the laboratory, the growth of each phytopathogen was determined when they were placed in dual confrontation, in soluble compounds (SC) assay by the cellophane film method and in volatile organic compounds (VOC) assay. The statistical analysis indicated that, in direct confrontation the four species more inhibited *R. solani* (52 to 75%) and *P. capsici* (64 to 69%); to *Fusarium* sp, only from 19 to 47%. The CS of *T. brevicompactum* inhibited *R. solani* by 64%. *T. simmonsii* CS inhibited *P. capsici* by 34%. The VOCs produced by *T. yunnanense* affect the growth of *R. solani* by more than 60%. Those of *T. simmonsii* and *T. brevicompactum* mostly to *P. capsici* (34-35%). The participation of CS and VOCs in the inhibition varies depending on the *Trichoderma* species and the phytopathogenic species. Finally, native biocontrol species have the potential to become a solution alternative for root rots of pepper.

Key words: *Capsicum annuum*, root diseases, biocontrol, antagonism, antibiosis.

INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum annuum*) es un producto importante en México, se produce en todo el territorio nacional y por algunos años, el país se ha posicionado como el segundo mayor productor mundial (SIAP 2021). La pudrición de la raíz es un problema recurrente en todas las zonas agrícolas del país, donde causa importantes pérdidas en los cultivos que pueden llegar de 70 a 100% (Albañil-Juárez et al. 2015, Hernández-Hernández et al. 2021). Esta enfermedad es causada por un complejo de agentes fitopatógenos entre los cuales se pueden encontrar *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici*, *Pythium* sp. y *Verticillium* sp (Robles-Hernández et al. 2019, Gallegos-Morales et al. 2022). Las principales alternativas para el manejo de la pudrición de raíz han sido el control genético, químico y cultural, pero ninguna de ellas es eficiente (Espinoza-Ahumada et al. 2020). Otra opción que aún no se ha adoptado completamente por los productores es el uso de control biológico que involucra el manejo de especies antagónicas y es un método eficaz que contribuye en la inhibición de hongos fitopatógenos (Diyarza-Sandoval y Reverchon 2021). Contra la enfermedad suelen emplearse hongos del género de *Trichoderma*, cuyas especies actúan mediante mecanismos como competencia por espacio y nutrientes, producción de enzimas hidrolíticas, metabolitos volátiles y no volátiles, micoparasitismo e inducción de resistencia sistémica (Zin y Badaluddin 2020, Mukherjee et al. 2022, Tyśkiewicz et al. 2022). La antibiosis es un mecanismo que inhibe el crecimiento de los patógenos por la producción de compuestos no volátiles y volátiles que son metabolitos secundarios de bajo peso molecular y se producen en la fase estacionaria, entre los cuales destacan los peptaiboles, policétidos y terpenos (Keswani et al. 2013, Marques et al. 2018). Los compuestos no volátiles son aquellos que se difunden en el medio, *Trichoderma* produce tricotoxinas A y B, tricoeceninas, tricorovinas y tricocelinas (Meng-Fei et al. 2019, Sood et al. 2020). Los compuestos orgánicos volátiles son los que se transportan libremente en el medio, provocando la inhibición de crecimiento

de los fitopatógenos o bien pueden participar en el estímulo de la resistencia sistémica en las plantas (Lee et al. 2016). El perfil de los compuestos producidos por *Trichoderma* es diferente cuando crecen solas a cuando se encuentra en interacción con algún fitopatógeno (Rajani et al. 2021). Durante el antagonismo, se producen metabolitos como el disulfuro de dimetilo, dibenzofurano, metanotiol, cetonas y 6-pentil- α -pirona (Soller-Ramada et al. 2019).

Muchos de los productos comerciales formulados con *Trichoderma* se centran principalmente en unas cuantas especies sobre las cuales hay una vasta investigación (Woo et al 2014, Samuels y Hebbbar 2015). Sin embargo, hoy en día se conocen diversas especies con alto potencial para biocontrol y promoción de crecimiento vegetal de las cuales existe menos información (Pedredo-Méndez et al. 2021), entre las cuales se encuentran *T. yunnanense*, *T. brevicompactum* y *T. simmonsii* (Cetz-Chi et al. 2018, Sadañoski et al. 2018, Suárez-Contreras y Peñaranda-Figueredo 2021). Mientras que Jiang et al. (2016) encontraron que *T. asperellum* fue la especie con mejor inhibición y desintegración de la colonia de *P. capsici* en siete días; también se demostró la capacidad de infectar a las oosporas de hibernación del patógeno principal causante de la pudrición de raíz. Al respecto Das et al. (2019) lograron un control de *R. solani*, *T. asperellum* y *T. brevicompactum* del 60 y 50% de inhibición, respectivamente. También se ha reportado que *T. simmonsii* controla a *R. solani* en cultivos agrícolas (Wang y Zhuang 2019), reduce el damping-off preemergente de pimiento causado por *P. capsici* y protege a las plántulas en desarrollo (Rokni et al. 2021). En estos estudios, el micoparasitismo fue un mecanismo efectivo, pero no es el único que influye en el biocontrol, ya que diversos metabolitos secundarios solubles (CS) y volátiles (COVs) tienen participación. En una revisión se reportan 390 CS producidos por 20 especies de *Trichoderma* (Li et al. 2019). Mientras que *T. asperellum* produce CS que en diferentes concentraciones que son eficientes contra *F. graminearum* y *R. solani* (Raut et al. 2014). También se reporta que *T. yunnanense* produce metabolitos secundarios que pueden inhibir el crecimiento de *Ganoderma boni-*

nense (Budi et al. 2022). En tanto que, *T. brevicompactum* produce harzianum A y trichodermina, teniendo este último compuesto otros usos biotecnológicos (Shentu et al. 2018).

La trichodermina, ha mostrado efectos fungicidas contra hongos fitopatógenos (Leylaie y Zafari 2018). También Hernández-Castillo et al. (2020), reporta que trichodermina, la glicotoxina y viridina, producidos por especies de *Trichoderma* interfieren en el crecimiento de fitopatógenos. En cuanto a los COVs reportados como inhibidores de crecimiento de *P. capsici* y *R. solani*, se encuentran el dióxido de carbono, etileno y 6-pentil-pirona (6PP) (Osorio-Hernández et al. 2011). En tanto que Otros COVs reportados para *Trichoderma* son etanol, butanal, 2-Metilpropanal, acetato de etilo, piridina, fenol, isocariofileno, 6-pentilpirano-2-ona, octanal y 3-metilbutanal (Lee et al. 2016). En estos últimos años, se ha detectado e identificado molecularmente diferentes especies de *Trichoderma*, nativas de diferentes sitios agrícolas de la región Centro-Sur de Chihuahua (Guigón et al. 2010). El mejor aprovechamiento de estas especies en cultivos agrícolas requiere que se caractericen fisiológicamente a fin de determinar su potencial biotecnológico, por lo que el presente trabajo se estableció con el objetivo de evaluar la capacidad antagónica *in vitro* de aislamientos nativos de *Trichoderma asperellum*, *T. yunnanense*, *T. brevicompactum* y *T. simmonsii* frente a los tres agentes que causan la pudrición de la raíz en cultivos de Chile.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Reproducción de Organismos Benéficos (LROB) de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales (FCAyF) de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH) en Cd. Delicias, Chihuahua. Las especies estudiadas fueron *Trichoderma asperellum*, *T. yunnanense*, *T. brevicompactum* y *T. simmonsii* (Figura 1) en su relación antagónica contra los agentes fitopatógenos *Phytophthora capsici*, *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia solani*. Todos los hongos forman parte de la colección de microorganismos benéficos del LROB de la

FCAyF. El Oomiceto *P. capsici* fue proporcionado por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, de Morelia, Michoacán.

Prueba de Confrontación Dual

Se utilizó la metodología propuesta por Shabana et al. (2007), con modificaciones. El medio de cultivo fue papa-sacarosa-agar (PSA) elaborado en el mismo laboratorio. Brevemente, 250 g de papa se hierven en un litro de agua destilada (AD) durante 30 minutos, se filtran en tela para queso, se le añaden 20 g de sacarosa y 15 g de agar. Se afora nuevamente a un litro con AD y se esteriliza a 121 °C durante 15 minutos.

Las cajas de Petri se inocularon con un disco de cinco milímetros de diámetro de micelio del fitopatógeno que se colocó en un extremo de la caja. En el extremo opuesto las cajas se inocularon con una especie de *Trichoderma*. Este procedimiento se repitió para las cuatro especies. Como control se inocularon cajas con un disco de cinco milímetros de micelio del fitopatógeno. Se incubaron a una temperatura de 25 +/- 3°C. Cada 24 horas se registró el crecimiento del patógeno por un período máximo de seis días. Para *Fusarium* sp. y *P. capsici* la confrontación se realizó de forma similar al procedimiento anterior, con una modificación. Debido a su lento crecimiento, estos dos fitopatógenos se dejan desarrollar por 24 horas, antes de confrontarse. Se midió el diámetro de crecimiento de los fitopatógenos con una regla, para finalmente determinar el porcentaje de inhibición que ejercieron las especies de *Trichoderma*:

$$\%Inh = 100 - \left(\frac{CFPE}{CFPC} * 100 \right)$$

Donde: %Inh = Porcentaje de inhibición del crecimiento del patógeno. CFPE = Crecimiento final del patógeno en el enfrentamiento. CFPC = Crecimiento final del patógeno control.

Adicionalmente, se tomó nota de la coloración del micelio, la esporulación, formas de crecimiento de los hongos y cambios de color del medio de cultivo.

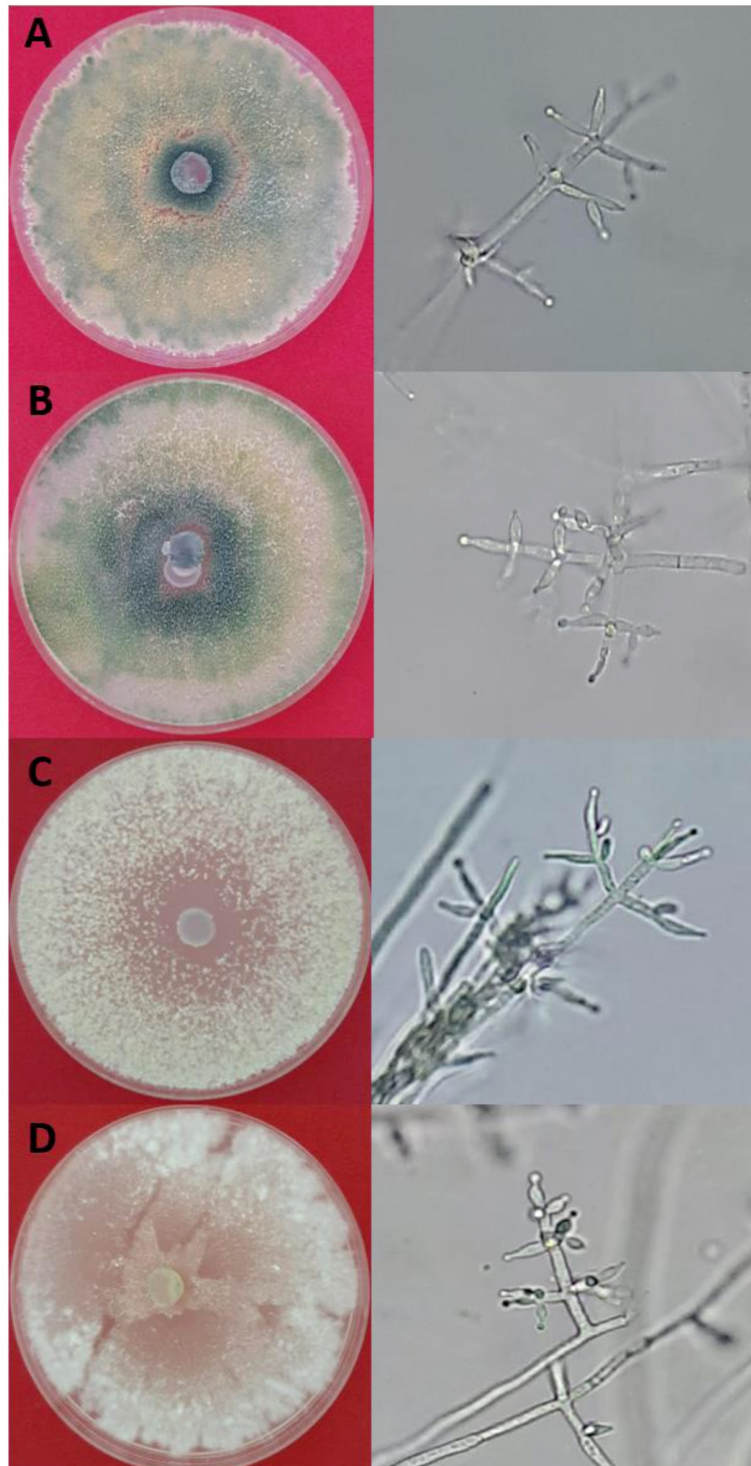


Figura 1. Colonia de las cuatro especies de *Trichoderma* y su observación microscópica a 40X en medio de cultivo PDA. A) *T. asperellum*. B) *T. yunnanense*. C) *T. brevicompactum*. D) *T. simmonsii*.

Actividad de compuestos solubles por el método de película de celofán

La prueba se realizó en medio de cultivo PSA con base en la metodología propuesta por Shabana *et al.* (2007), con modificaciones. En cajas de Petri se coloca una película de celofán estéril sobre el medio de cultivo, se inocula al centro un disco de cinco milímetros de diámetro de micelio de cada especie de *Trichoderma*. Se colocaron en incubación a temperatura de 25+/- 3°C. Pasadas 24 horas de incubación se marcó el área donde se encontraba el disco del *Trichoderma*, se retiró el celofán con el crecimiento del antagonista e inmediatamente se inoculó con un disco de las mismas dimensiones con el patógeno, se sellaron e incubaron. El testigo consistió en colocar los cinco milímetros del fitopatógeno en el centro de cajas sin exposición a los compuestos de las especies de *Trichoderma*. Se registró el crecimiento del patógeno cada 24 horas durante un máximo de seis días. Se realizó el mismo procedimiento para cada uno de los patógenos.

Actividad de compuestos orgánicos volátiles

De acuerdo con Tapwal y Pandey (2016), esta prueba consistió en sembrar un disco de cinco milímetros de diámetro con micelio de *R. solani* en cajas Petri con medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA)(Bioxon®). Por otra parte, se prepararon cajas con el medio PDA para inocular cada especie de *Trichoderma* en el centro. Se sellaron todas las cajas y se incubaron por 24 horas a temperatura de 25 +/- 3°C. Un día después se confrontaron las cajas, para ello se toman las cajas con una misma especie de *Trichoderma* para colocarlas como base y sobre ellas se coloca la caja de *R. solani*. Esta misma técnica se repitió con las diferentes especies de *Trichoderma*. Cajas solo con el fitopatógeno se consideraron control. Para luego proceder a incubar de nuevo a 25 +/- 3°C hasta que el control cubrió todo el medio de cultivo. El registro del crecimiento del patógeno fue cada 24 horas hasta que el experimento estuvo libre de contaminación. Este mismo procedimiento se realizó para *Fusarium* sp. y *P. capsici*.

Diseño experimental y análisis estadístico

Los experimentos se realizaron bajo un diseño completamente al azar y se establecieron de forma independiente para cada hongo fitopatógeno. Cada prueba consideró cuatro tratamientos (cada especie de *Trichoderma*), más un control (cada patógeno sin confrontación con alguna cepa de *Trichoderma*). Por tratamiento se establecieron cinco repeticiones. La unidad experimental consistió en una caja Petri con los medios de cultivo PSA o PDA, según fuera el caso. Para el análisis estadístico se utilizó del programa Minitab, donde los datos fueron procesados mediante análisis de varianza (ANOVA) y la prueba Tukey (P = 0.05) para separar las medias cuando se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos.

RESULTADOS

Confrontación dual *in vitro*

Se observaron y analizaron las respuestas que tuvieron los tres fitopatógenos al compartir el mismo espacio y nutrientes con las especies de *Trichoderma*. *P. capsici*, seguido de *R. solani* se observó que son altamente susceptibles a los cuatro antagonistas, en tanto que *Fusarium* sp. fue menos afectado (P < 0.0001) (Figura 2). Frente a *P. capsici*, a partir de las 48 horas fue evidente la inhibición de crecimiento en comparación al control, lo cual se mantuvo hasta 120 horas. Para *R. solani*, se observó que al estar en confrontación desarrolla un micelio más compacto desde antes del contacto con los antagonistas, excepto en *T. yunnanense*. Además, este fitopatógeno mostró sobrecrecimiento en las cuatro especies de *Trichoderma*, lo cual es un indicador de antagonismo positivo y posible micoparasitismo. Comparando entre antagonistas, *T. yunnanense* (Ty) y *T. simmonsii* (Ts), se observa una inhibición del 65 y 47% en el crecimiento de *R. solani* y de *Fusarium* sp., respectivamente (Tabla 1); seguidas por *T. asperellum* (Ta) y finalmente *T. brevicompactum* (Tb) (Tukey, P < 0.05). Las cuatro especies de *Trichoderma* inhibieron de forma similar el crecimiento de *P. capsici*.

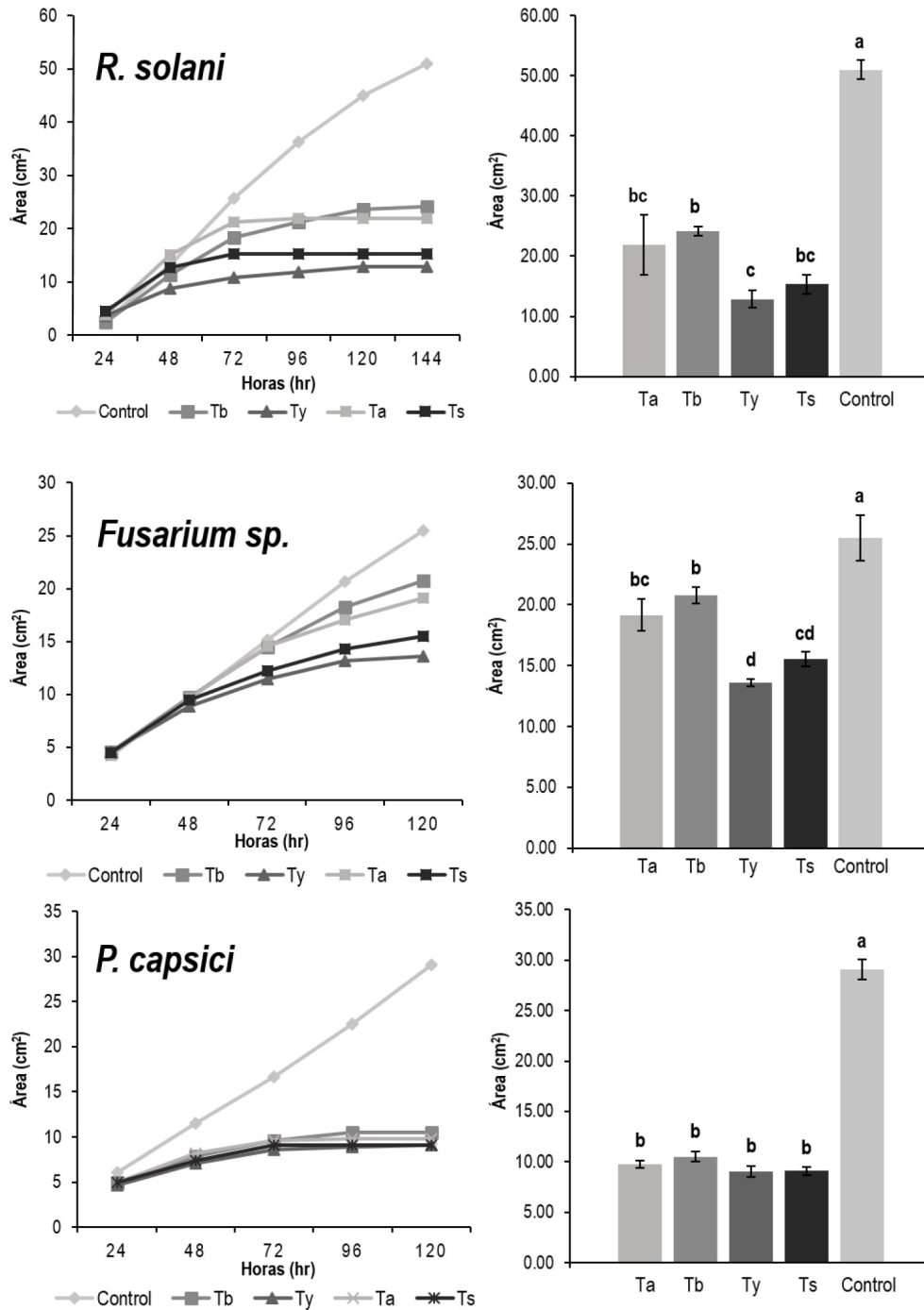


Figura 2. Cinética de crecimiento micelial (A) y crecimiento final (B) de los fitopatógenos confrontados con las cuatro especies de *Trichoderma*. Ta = *T. asperellum*; Tb = *T. brevicompactum*; Ty = *T. yunnanense*; Ts = *T. simmonsi*. Letras distintas sobre las columnas en (B) indican diferencia estadística (Tukey <math>< 0.05</math>). Las barras de las columnas indican el error estándar.

Tabla 1. Inhibición (%) del crecimiento *in vitro* de los agentes que causan la pudrición de la raíz de chile por especies de *Trichoderma*.

Fitopatógeno	Especie antagonista				Valor P
	<i>T. yunnanense</i>	<i>T. simmonsii</i>	<i>T. brevicompactum</i>	<i>T. asperellum</i>	
Confrontación dual					
<i>R. solani</i>	74.8 ^a	69.9 ^{ab}	52.7 ^b	56.9 ^{ab}	0.0001
<i>Fusarium</i>	46.7 ^a	39.1 ^{ab}	18.6 ^c	24.9 ^{bc}	0.0001
<i>P. capsici</i>	68.8 ^a	68.8 ^a	63.8 ^a	66.4 ^a	0.0001
Compuestos solubles					
<i>R. solani</i>	16.1 ^b	0.0 ^c	63.8 ^a	0.0 ^c	0.0001
<i>Fusarium</i>	0.0 ^b	0.0 ^b	21.8 ^a	0.9 ^b	0.0001
<i>P. capsici</i>	4.5 ^b	33.8 ^a	10.6 ^b	9.2 ^b	0.0001
Compuestos orgánicos volátiles					
<i>R. solani</i>	63.2 ^a	2.3 ^c	7.7 ^c	31.7 ^b	0.002
<i>Fusarium</i>	21.2 ^a	19.7 ^a	16.4 ^a	7.4 ^b	0.004
<i>P. capsici</i>	25.2 ^b	35.3 ^a	34.0 ^a	3.7 ^c	0.001

Cada prueba se realizó de forma independiente. Para cada fitopatógeno, valores con distinta letra indican diferencia estadística significativa (Tukey 0.05) entre especies antagonistas (comparación horizontal).

Actividad de compuestos solubles (CS) de especies de *Trichoderma*

La actividad de los CS no fue pronunciada, pero se observaron diferencias significativas en el crecimiento de los fitopatógenos ($P < 0.0001$). Se observó que *R. solani*, fue el más afectado por estos compuestos, mientras que *Fusarium* sp. mostró un menor efecto (Figura 3). La inhibición más importante la ejerció *T. brevicompactum* en contra de *R. solani* (64%) (Tukey $P < 0.05$). Mientras que *T. yunnanense* no mostró efectos importantes, en tanto que *T. simmonsii* inhibió de mayor forma a *P. capsici* (34%) (Tukey $P < 0.05$).

Actividad de compuestos orgánicos volátiles (COVs)

Las cuatro especies antagonistas produjeron (COVs) efectos negativos sobre el crecimiento de por lo menos un fitopatógeno (Figura 4). Los efectos fueron más notables contra *P. capsici* ($P < 0.001$) y *R. solani* ($P < 0.002$), mientras que *Fusarium* sp. fue el menos afectado ($P < 0.004$). Se observó que *T. yunnanense* inhibió más a *R. solani* desde las primeras 24 horas y mantuvo el control del patógeno hasta el final con una inhibición del 60%, pero su efecto fue menor contra *Fusarium* sp. (21%) y fue incapaz de inhibir a *P. capsici*. Mientras que *T. brevicompactum* y *T. simonsii* inhibieron más a *P. capsici* en

un 30 y 40%, respectivamente; con efecto a partir de las 48 horas, pero no generaron inhibición contra *R. solani*. Los tres antagonistas inhibieron a *Fusarium* sp. después de las 72 horas, en que lograron una diferencia significativa. En tanto que *T. asperellum* solo mostró ligera inhibición contra *R. solani* después de 48 horas.

DISCUSIÓN

La eficiencia de un agente de biocontrol está dada, en parte, por los mecanismos que activa cuando se confronta con el fitopatógeno (Redda *et al.* 2018, Poveda 2021). En este trabajo se expusieron *in vitro* los fitopatógenos de *R. solani*, *Fusarium* sp. y *P. capsici* a la acción de diferentes especies de *Trichoderma*, en tres diferentes pruebas que asemejan sus mecanismos de acción.

Confrontación dual *in vitro*

Los resultados muestran que el efecto antagonístico fue mayor durante la confrontación directa, lo que indica que las especies de *Trichoderma* tienen la oportunidad de generar, en el mismo tiempo y espacio que los patógenos, todos sus mecanismos de acción entre los cuales se incluye la producción de CS y COVs (Tian *et al.* 2020). Este fenómeno fue más acentuado en el caso de *T. asperellum*, que solo

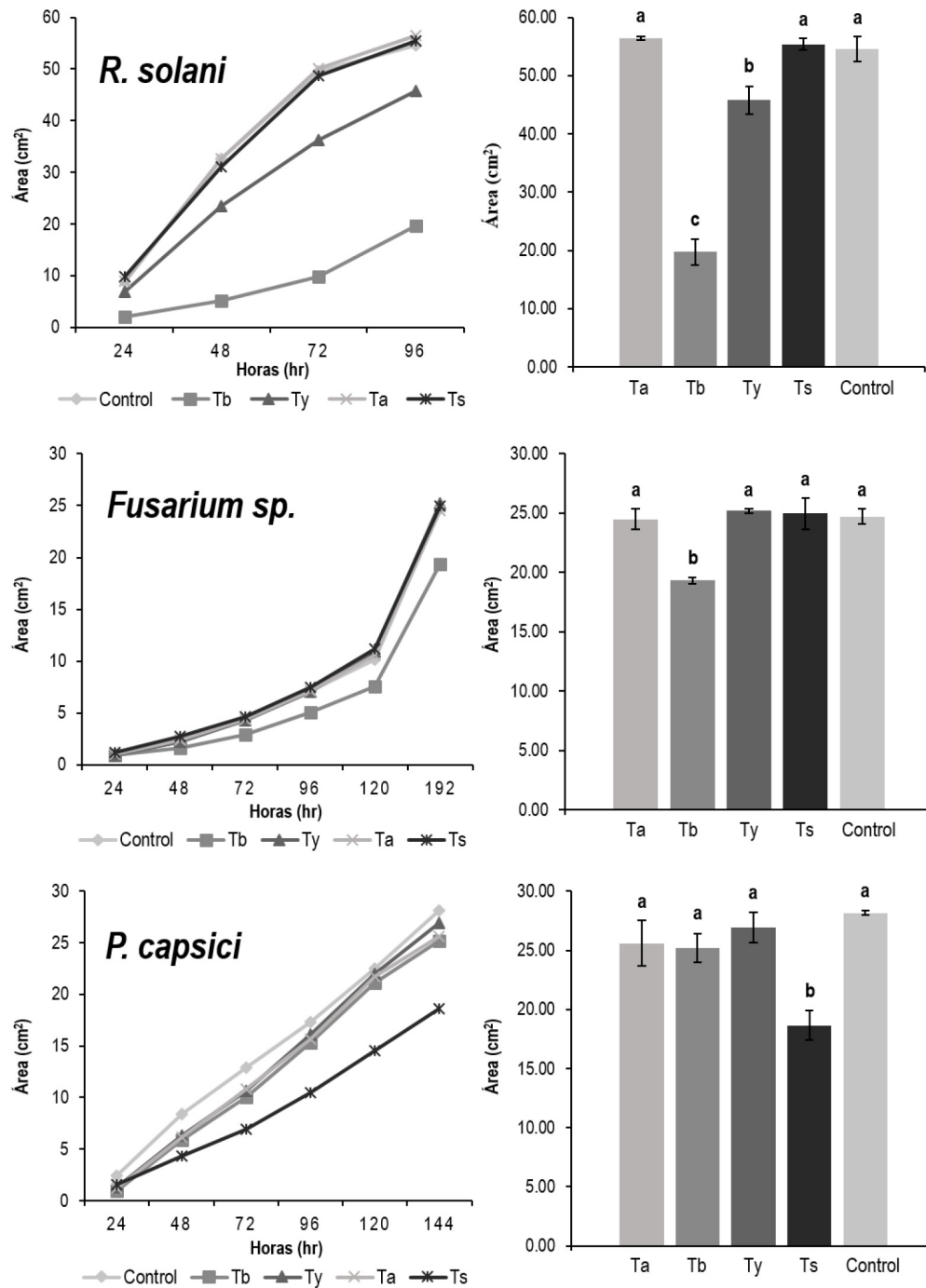


Figura 3. Cinética de crecimiento micelial (A) y crecimiento final de los fitopatógenos (B), por acción de compuestos solubles de las cuatro especies de *Trichoderma*. Ta = *T. asperellum*; Tb = *T. brevicompactum*; Ty = *T. yunnanense*; Ts = *T. simmonsii*. Letras distintas sobre las columnas en (B) indican diferencia estadística significativa (Tukey <math><math>P < 0.05</math></math>). Las barras de las columnas indican el error estándar.

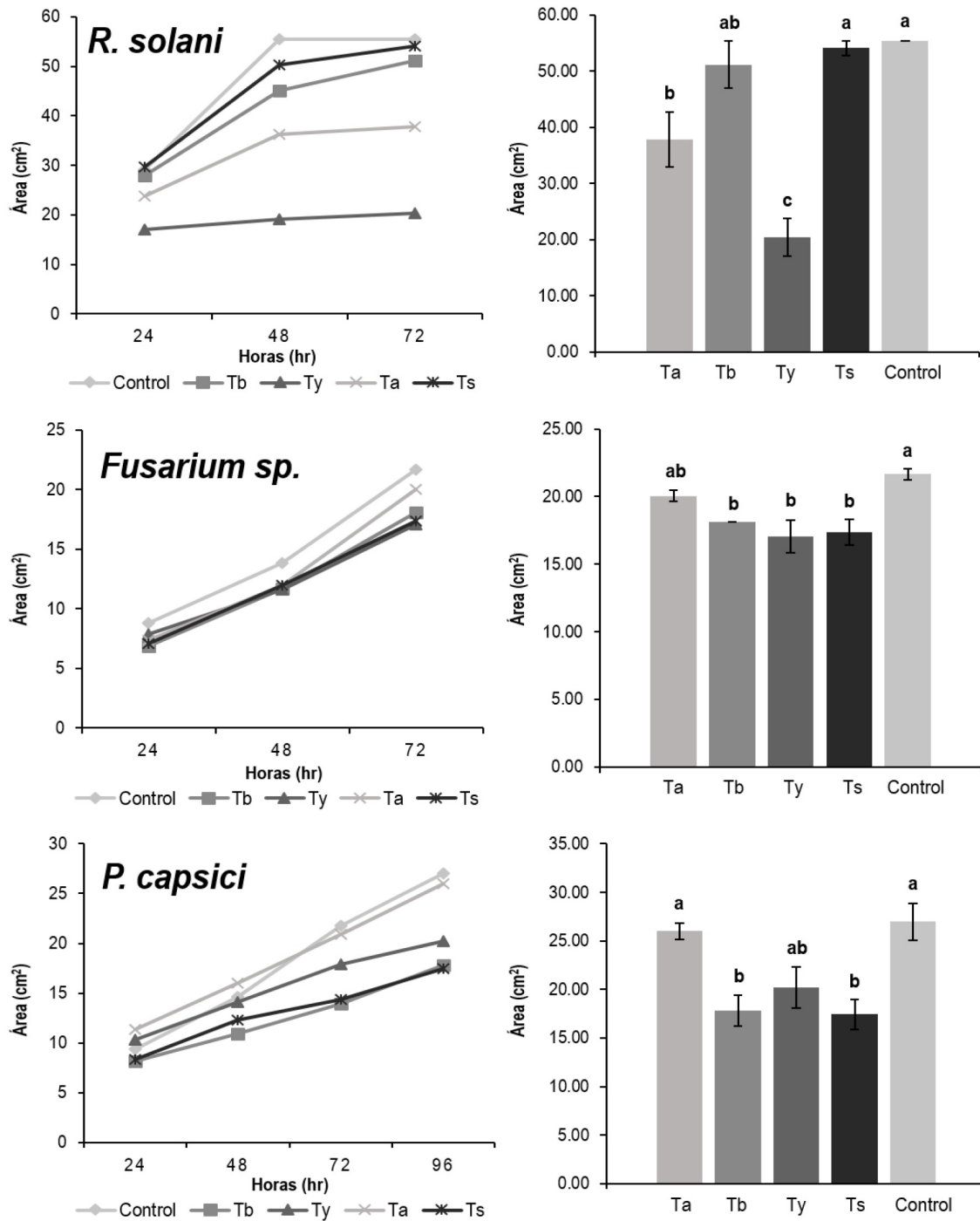


Figura 4. Cinética de crecimiento micelial (A) y crecimiento final de los fitopatógenos (B), por acción de compuestos orgánicos volátiles de las cuatro especies de *Trichoderma*. Ta = *T. asperellum*; Tb = *T. brevicompactum*; Ty = *T. yunnanense*; Ts = *T. simmonsii*. Letras distintas sobre las columnas en (B) indican diferencia estadística significativa (Tukey < 0.05). Las barras de las columnas indican el error estándar.

durante la confrontación directa generó un antagonismo importante, por lo que al parecer en esta especie es más necesaria la acción combinada de CS y COVs, sin descartar la posible participación en la inhibición, de otras moléculas o compuestos distintos a los detectados con las técnicas empleadas (Paredes-Escalante *et al.* 2011, Wang y Zhuang 2019). Durante la confrontación, se observa que *T. yunnanense* y *T. simmonsii* inhibieron a los tres fitopatógenos, aunque a *Fusarium* sp. fue en menor medida. Se tiene reportes que *T. yunnanense* tiene la capacidad de inhibir y sobrecrecer el micelio de *P. capsici* (De-la-Cruz-Quiroz *et al.* 2018, Budi *et al.* 2023) y *T. simmonsii* tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de *R. solani* (Wang y Zhuang 2019).

Actividad de CS de especies de *Trichoderma*

Por la acción de CS destacó *T. brevicompactum* frente a *R. solani* y *Fusarium* sp. Esta especie de *Trichoderma* es reconocida por los CS que actúan como inhibidores de otros organismos como los que causan la pudrición de raíz en Chile (Reyes-Ramírez *et al.* 2012, Marques *et al.* 2018), aunque la inhibición depende no solo de la cepa sino también de las condiciones ambientales que se presenten. *T. brevicompactum* produce trichodermina (Leylaie y Zafari 2018), que tiene un marcado efecto inhibitorio sobre *R. solani* (Shentu *et al.* 2014). Esta especie también produce otros CS involucrados en la protección de las plantas, como alameticinas activas en la membrana y peptaibióticos, como tricocriptinas B, tricocriptinas A, tricobrevinas A y B, trichoferinas y tricocompactinas (Degenkolb *et al.* 2006). También *T. yunnanense* redujo el crecimiento de *R. solani*, aunque en menor grado, en tanto que únicamente los CS de *T. simmonsii* redujeron el crecimiento de *P. capsici*. Anteriormente, Rokni *et al.* (2021) reportaron el control de *P. capsici* por *T. simmonsii* en condiciones de invernadero, aunque no atribuyen el efecto inhibitorio a algún mecanismo de acción específico.

Actividad de COVs de especies de *Trichoderma*

Las especies de *Trichoderma* también son reconocidas productoras de COVs, que generan una

acción positiva o negativa en su interacción con las plantas u otros microorganismos (Stoppacher *et al.* 2010). Por la actividad de los COVs, los efectos más importantes los produjo *T. yunnanense* sobre el crecimiento de *R. solani*. Recientemente, Budi *et al.* (2023) reportaron que los COVs de *T. yunnanense* inhiben 55% el crecimiento de *Ganoderma boninense*. Por su parte, *T. simmonsii* y *T. brevicompactum* redujeron de forma importante el crecimiento de *P. capsici*. *T. asperellum* no mostró efectos destacados, sus COVs solo inhibieron a *R. solani*. En general los COVs fueron más relevantes que los CS, sin embargo, el efecto de los compuestos fue variable dependiendo de la especie de *Trichoderma* y del patógeno que atacan. Por ejemplo, para *T. brevicompactum* los CS fueron más determinantes, pero no afectaron a *P. capsici*, mientras que en *T. yunnanense* fueron de mayor importancia los COVs producidos y tampoco afectaron al Oomiceto. De manera interesante, se observó que el efecto de los CS de *T. brevicompactum* tuvieron similar efecto de los COVs de *T. simmonsii*.

De acuerdo con los resultados obtenidos, *T. yunnanense* y *T. simmonsii* fueron las especies que mostraron mayor antagonismo, solo que su actividad fue contrastante. Mientras que *T. yunnanense* inhibió el crecimiento de *R. solani* en las tres pruebas, en tanto que *T. simmonsii* solo presentó inhibición durante la confrontación. Caso contrario ocurrió con *T. yunnanense* que solo inhibió a *P. capsici* mediante confrontación directa, en tanto que *T. simmonsii* inhibió a *P. capsici* en las tres pruebas. Estos resultados confirman a *T. simmonsii* como el principal candidato para el control de *P. capsici*. Otro contraste interesante se observó con *T. brevicompactum* cuyos COVs fueron relevantes contra *P. capsici* pero no con *R. solani*. Estas diferencias en el modo de acción de los antagonistas estudiados, pueden atribuirse a que en las especies de *Trichoderma* los metabolitos antifúngicos pueden variar incluso entre aislamientos de la misma especie (Li *et al.* 2019). De igual manera, estas diferencias representan la posibilidad de obtener un mayor biocontrol si las especies se usan en consorcios, lo cual es particularmente deseable en enfermedades

como las pudriciones radicales causadas por un complejo de microorganismos patógenos. Empleando este enfoque, Stummer *et al.* (2022), observaron que los metabolitos de *Trichoderma gamsii* A5MH y *T. harzianum* Tr906 redujeron el crecimiento *in vitro* de *Fusarium pseudograminearum*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium irregulare*. Posteriormente, coinocularon ambas cepas en trigo y redujeron los síntomas de la pudrición de la corona. De forma similar, en cultivos de papa, el establecimiento de un consorcio de *T. viride* y *T. harzianum* mejora la efectividad contra el tizón temprano por *Alternaria solani* (Kumar *et al.* 2022).

No se encontró información sobre los CS y COVs que producen las especies de *Trichoderma* empleadas en este trabajo. Pero para otras especies de este género, diversas investigaciones describen perfiles amplios de CS y COVs, con diferencias entre especies y entre condiciones en las que crecen. No obstante, la mayoría de las especies producen metabolitos volátiles y no volátiles que incluyen ácido harziánico, alamectinas, tricholina, peptaiboles, 6-pentil- α -pirona, masoilactona, viridina, glioviridina, glistopreninas, ácido heptelídico; antraquinonas, daucanos, pironas simples, konigininas, trichodermamidas, viridinas, viridiodunginas, compuestos nitrogenados heterocíclicos, tricodenonas y derivados de las ciclopentenonas, azafilonas, harzialactonas y derivados, butenolidos, trichotecenas, metabolitos isociano, metabolitos similares a setin, bisorbicilinoideos, diketopiperazinas, derivados del ergosterol, peptaiboles, derivados del cicloneodiol, estatinas, ácido heptelídico y derivados, acoranos (Reino *et al.* 2008, Marques *et al.* 2018). Los CS más reconocidos son tricotoxinas A y B, tricodeceninas, tricorovinas y tricocelinas (Sood *et al.* 2020). En tanto que, entre los COVs, destacan disulfuro de dimetilo, dibenzofurano, metanotiol, cetonas y 6-pentil- α -pirona (Wu *et al.* 2016, Soller-Ramada *et al.* 2019).

Por otra parte, los patógenos más afectados por el antagonismo fueron *R. solani* y *P. capsici*, mientras que *Fusarium* sp. opuso mayor resistencia. Diversos estudios han demostrado la eficacia de especies de *Trichoderma* para el biocontrol de *R. solani* y *P. capsici* (Abeyasingue *et al.* 2009, Tomah *et al.* 2020, Halifu *et al.* 2020). También se ha recono-

cido la capacidad de las especies de *Fusarium* para resistir el antagonismo, lo cual se atribuye a su capacidad de colonizar diversos nichos que le han permitido desarrollar resistencia a las toxinas y antibióticos de origen microbiano (Richtera y Levin 2019). Esta insensibilidad de especies de *Fusarium* a compuestos como el 2,4 diacetilfloroglucinol (2,4-DAPG) y la cianida hidrogenada (HCN) se atribuye a la producción de ácidos fusárico y piridina-carboxílico, y a la degradación de la cianida hidratasa (Duffy *et al.* 2003). Estos autores también mencionan que algunas especies de *Fusarium* producen deoxinivalenol, un trichoteceno con amplia función ecológica, que actúa como señal represiva de genes que codifican para enzimas quitinasas en *T. atroviride*.

El género *Trichoderma*, comprende diversas especies que han demostrado capacidad para ser usadas en la agricultura como agentes de control biológico de fitopatógenos (Companioni-González *et al.* 2019). En la región Centro-Sur de Chihuahua, se han detectado especies nativas de estos hongos que son poco conocidas en nuestro país y de las cuales la información en la literatura científica es limitada. De ahí la necesidad de caracterizar su antagonismo, sabiendo que comprender su potencial es necesario para apoyar el desarrollo de una agricultura sustentable. Los resultados obtenidos aportan información sobre la participación de los diferentes mecanismos de acción en el antagonismo de las especies de *Trichoderma* contra los fitopatógenos involucrados en la pudrición radical del chile. También demuestran que los metabolitos secundarios de las cuatro especies estudiadas actuaron de forma variable sobre los fitopatógenos, por lo cual a futuro es necesario identificar y cuantificar los CS y COVs que producen. La información generada podrá servir como plataforma para futuros estudios que evalúen el potencial real de las especies estudiadas.

CONCLUSIONES

Se demostró la capacidad antagónica de las cuatro especies de *Trichoderma* ante los tres patógenos que causan la pudrición de la raíz de chile, principalmente durante la confrontación directa

donde todos los antagonistas inhibieron a todos los fitopatógenos. Sus metabolitos secundarios actuaron de forma variable. Para *T. asperellum*, solo sus COVs inhibieron a *R. solani*. Para *T. brevicompactum*, sus CS inhibieron principalmente a *R. solani* pero no afectaron a *P. capsici*. Sus COVs inhibieron a *P. capsici* pero no a *R. solani*. *T. yunnanense* produjo compuestos más activos contra *R. solani*. En *T. simmonsii* sus COVs actuaron principalmente contra *R. solani* y sus CS inhibieron a *P. capsici*. Los resultados confirman que las especies de *Trichoderma* pueden tener un control biológico aceptable. Este potencial puede mejorarse si se manejan en forma de consorcios en

los que sus capacidades se complementen lo cual deberá ser confirmado a futuro mediante experimentos en invernadero y campo.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Sylvia Fernández Pavia, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, de Morelia, Michoacán, por apoyarnos con la cepa de *P. capsici* utilizada en este trabajo.

LITERATURA CITADA

- Abeyasingue S (2009) Effect of combined use of *Bacillus subtilis* CA32 and *Trichoderma harzianum* RUOI on biological control of *Rhizoctonia solani* on *Solanum melongena* and *Capsicum annuum* Plant Pathology Journal 8: 9-16.
- Albañil-Juárez J A, Mariscal-Amaro LA, Martínez-Martínez TO, Anaya-López JL, Cisneros-López HC, Pérez-Ramírez HA (2015) Estudio regional de fitopatógenos asociados a la secadera del chile en Guanajuato, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 6: 2191-2197.
- Budi M, Giyanto, Tondok E (2023) *Trichoderma yunnanense* and *T. asperellum* as potential biological agents for control of basal stem rot disease in oil palm. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 1133(1): 012036. DOI: 10.1088/1755-1315/1133/1/012036
- Cetz-Chi JI, Cristóbal-Alejo J, Tún-Suárez JM, Peraza-Luna FA, Candelero-De la Cruz J (2018) Especies nativas de *Trichoderma* spp. y su actividad antagónica contra *Meloidogyne incognita* en *Solanum lycopersicum* L. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes 26: 5-12.
- Companioni-González B, Domínguez-Arizmendi G, García-Velasco R (2019) Trichoderma: Su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. Biotecnología Vegetal 19: 237-248.
- Das MM, Haridas M, Sabu A (2019) Biological control of black pepper and ginger pathogens, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora capsici*, using *Trichoderma* spp. Biocatalysis and agricultural biotechnology 17: 177-183.
- De la Cruz-Quiroz R, Roussos S, Rodríguez-Herrera R, Hernandez-Castillo D, Aguilar C (2018) Inhibición del Crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Phytophthora capsici* por Cepas Nativas Mexicanas de *Trichoderma*. Karbala. International Journal of Modern Science 4: 237-243.
- Degenkolb T, Gräfenhan T, Nirenberg HI, Gams W, Brückner H (2006) *Trichoderma brevicompactum* complex: rich source of novel and recurrent plant-protective polypeptide antibiotics (peptaibiotics). Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 7047-7061.
- Diyarza-Sandoval NA, Reverchon F (2021) Potenciales agentes de control biológico contra *Fusarium* spp. en México: situación actual, retos y perspectivas. Biotecnología y Sustentabilidad 6: 16-39.
- Duffy B, Schouten A, Raaijmakers J (2003) Pathogen Self-Defense: Mechanisms to Counteract Microbial Antagonism. Annual review of phytopathology 41: 501-538.

- Espinoza-Ahumada CA, Gallegos-Morales G, Ochoa-Fuentes YM, Hernández-Castillo FD, Méndez-Aguilar R, Rodríguez-Guerra R (2020) Antagonistas microbianos para biocontrol de la marchitez y su efecto promotor en el rendimiento de chile serrano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10: 187-197.
- Gallegos-Morales G, Espinoza-Ahumada CA, Méndez-Aguilar R, Rodríguez-Guerra R, Salas-Gómez AL, Peña-Ramos FM (2022) Compatibilidad de especies de *Trichoderma* en la producción y y biocontrol de marchitez del chile. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 9(2): 1-7. DOI: 10.19136/era.a9n2.3066.
- Guigón-López C, Guerrero-Prieto V, Vargas-Albores F, Carvajal-Millan E, Ávila-Quezada GD, Bravo-Luna L, Ruocco M, Lanzuise S, Woo S, Lorito M (2010) Identificación Molecular de Cepas Nativas de *Trichoderma* spp. su Tasa de Crecimiento *in vitro* y Antagonismo contra Hongos Fitopatogenos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28: 87-96.
- Halifu S, Deng X, Song X, Song R, Liang X (2020) Inhibitory mechanism of *Trichoderma virens* ZT05 on *Rhizoctonia solani*. *Plants* 9: 912. DOI: 10.3390/plants9070912
- Hernández-Castillo FD, Castillo-Reyes F, Tucuch-Pérez MA, Arredondo-Valdés R (2020) Biological efficacy of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. in the management of plant diseases. In: Kumar DS (ed) *Organic Agriculture*. IntechOpen. London, UK. pp: 97-118.
- Hernández-Hernández BN, Tornero-Campante MA, Sandoval-Castro E, Rodríguez-Mendoza M, Taboada-Gaytán OR, Peña-Olvera BV (2021) Crecimiento, rendimiento y calidad de chile poblano cultivado en hidroponía bajo invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 12: 1043-1056.
- Jiang H, Zhang L, Zhang J, Hyde KD, Ojaghian MR (2016) Antagonistic interaction between *Trichoderma asperellum* and *Phytophthora capsici* *in vitro*. *Journal of Zhejiang University-Science* 17: 271-281.
- Keswani C, Mishra S, Sarma B, Bahadur-Singh H, Singh S (2013) Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98: 533-544.
- Kumar S, Chandra R, Behera L, Keswani C, Sansinenea E (2022) Dual *Trichoderma consortium* mediated elevation of systemic defense response against early blight in potato. *Eur J Plant Pathol* 162: 681-696.
- Lee S, Yap M, Behringer G, Hung R, Bennett JW (2016) Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. *Fungal Biology and Biotechnology* 3: 1-14.
- Leylaie S, Zafari D (2018) Antiproliferative and antimicrobial activities of secondary metabolites and phylogenetic study of endophytic *Trichoderma* species from vinca plants. *Frontiers in Microbiology* 9: 1484. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01484.
- Li MF, Li GH, Zhang KQ (2019) Non-Volatile Metabolites from *Trichoderma* spp. *Metabolites* 9(3): 58. DOI: 10.3390/metabo9030058.
- Marques E, Martins I, Correa-Marques-de-Mello S (2018) Antifungal potential of crude extracts of *Trichoderma* spp. *Biota Neotropica* 18(1). DOI: 10.1590/1676-0611-BN-2017-0418
- Meng-Fei L, Guo-Hong L, Ke-Qin Z (2019) Non-Volatile metabolites from *Trichoderma* spp. *Metabolites* 9(3): 58. DOI: 10.3390/metabo9030058.
- Mukherjee PK, Mendoza-Mendoza A, Zeilinger S, Horwitz BA (2022) Mycoparasitism as a mechanism of *Trichoderma*-mediated suppression of plant diseases. *Fungal Biology Reviews* 39: 15-33.
- Osorio-Hernández E, Hernández-Castillo FD, Gallegos-Morales G, Rodríguez-Herrera R, Castillo-Reyes F (2011) *In-vitro* behavior of *Trichoderma* spp. against *Phytophthora capsici* Leonian. *African Journal of Agricultural Research* 6: 4594-4600.

- Paredes-Escalante JE, Carrillo-Facio JA, Sañudo-Barajas JA, Allende-Molar R, García-Estrada RS, Gregori R, Labavitch JM (2011) Enzimas líticas producidas por *Trichoderma* spp. y su correlación con la inhibición *in vitro* de patógenos causantes de la pudrición de la raíz del Garbanzo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 29: 73-75.
- Pedrero-Méndez A, Insuasti HC, Neagu T, Illescas M, Rubio MB, Monte E, Hermosa R (2021) Why is the correct selection of *Trichoderma* strains important? The case of wheat endophytic strains of *T. harzianum* and *T. simmonsii*. *Journal of Fungi* 7(12): 1087. DOI: 10.3390/jof7121087.
- Poveda J (2021) *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. *Biological Control* 159: 104634. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2021.104634.
- Rajani P, Rajasekaran C, Vasanthakumari MM, Olsson SB, Ravikanth G, Shaanker RU (2021) Inhibition of plant pathogenic fungi by endophytic *Trichoderma* spp. through mycoparasitism and volatile organic compounds. *Microbiological Research* 242(3): 126595. DOI: 10.1016/j.micres.2020.126595.
- Raut I, Calin M, Vasilescu G, Badea-Doni M, Sesan T, Jecu L (2014) Effect Of non volatile compounds of *Trichoderma* spp. against *Fusarium graminearum*, *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*. *Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies* 18: 178-181.
- Reino JL, Guerrero RF, Hernández-Galán R, Collado IG (2008) Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Reviews* 7: 89-123.
- Redda ET, Ma J, Mei J, Li M, Wu B, Jiang X (2018) Antagonistic potential of different Isolates of *Trichoderma* against *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, and *Botrytis cinerea*. *European Journal of Experimental Biology* 8(2): 12. DOI: 10.21767/2248-9215.100053.
- Reyes-Ramírez A, Cristóbal-Alejo J, Ruiz-Sánchez E, Tun-Suárez JM (2012) Inhibición del crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp. aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con hongos antagonistas. *Fitosanidad* 16: 161-165.
- Richter D, Levin T (2019) The origin and evolution of cell-intrinsic antibacterial defenses in eukaryotes. *Genetics & development* 58: 111-122.
- Robles-Hernández L, Salas-Salazar NA, Hernández-Huerta J, González-Franco AC (2019) Principales enfermedades que afectan el potencial productivo del chile (*Capsicum annum* L.) en Chihuahua, México. En: Flores-Córdova ML, Luján-Aguirre RS, Porras-Flores DA (eds) *Chiles Regionales. variedades, producción e inocuidad*. Primera edición. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México. pp: 21-29.
- Rokni N, Alizadeh HS, Bazgir E, Darvishnia M, Mirzaei-Najafgholi H (2021) The tripartite consortium of *Serendipita indica*, *Trichoderma simmonsii*, and bell pepper (*Capsicum annum*). *Biological Control* 158: 104608. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2021.104608.
- Sadañoski MA, Gutierrez-Brower G, Castrillo ML, López AC, Ojeda P, Zapata PD, Villalba LL, Otegui MB (2018) Capacidades antagónicas de cepas *Trichoderma* y su multiplicación en masa usando desechos agrícolas. *Revista de Ciencia y Tecnología* 30: 4-11.
- Samuels G, Hebbard P (2015) *TRICHODERMA: Identification and agricultural applications*. The American Phytopathological Society. Minnesota, U.S.A. 204p.
- Shabana Y, Abdel-Fattah G, Ismail AE, Rashad Y (2007) *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent against *Bipolaris oryzae*. *Mycopathologia* 164: 81-89.
- Shentu X, Yao J, Yuan X, He L, Sun F, Ochi K, Yu X (2018) Tri11, tri3, and tri4 genes are required for trichodermin biosynthesis of *Trichoderma brevicompactum*. *AMB Express* 8(1): 1-11. DOI: 10.1186/s13568-018-0585-4.

- Shentu X, Zhan X, Ma Z, Yu X, Zhang C (2014) Antifungal activity of metabolites of the endophytic fungus *Trichoderma brevicompactum* from garlic. *Brazilian Journal of Microbiology* 45: 248-254.
- SIAP (2021) Creció 2.7 por ciento la producción de chile verde en México en 2020 y registra mayor demanda en los mercados internacionales. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/crecio-2-7-por-ciento-la-produccion-de-chile-verde-en-mexico-en-2020-y-registra-mayor-demanda-en-los-mercados-internacionales?idiom=es>. Fecha de consulta: 15 de Septiembre de 2021.
- Soller-Ramada MH, Cardoso-Lopes FA, Ulhoa CJ (2019) *Trichoderma*: metabolitos secundários. En: Conrado-Meyer M, Mazaro SM, da-Silva JC (Eds) *Trichoderma*: Uso na Agricultura. Embrapa. Brasília, DF. pp. 201-2018.
- Sood M, Kapoor D, Kumar V, Sheteiwy MS, Ramakrishnan M, Landi M, Araniti F, Sharma A (2020) *Trichoderma*: The “secrets” of a multitasking biocontrol agent. *Plants* 9(6): 762. DOI: 10.3390/plants9060762.
- Stoppacher N, Kluger B, Zeilinger S, Krska R, Schuhmacher R (2010) Identification and profiling of volatile metabolites of the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride* by HS-SPME-GC-MS. *Journal of Microbiological Methods* 81: 187-193.
- Stummer BE, Zhang X, Yang H, Harvey PR (2022) Co-inoculation of *Trichoderma gamsii* A5MH and *Trichoderma harzianum* Tr906 in wheat suppresses in planta abundance of the crown rot pathogen *Fusarium pseudograminearum* and impacts the rhizosphere soil fungal microbiome. *Biological Control* 165: 104809. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2021.104809.
- Suárez-Contreras LY, Peñaranda-Figueredo FA (2021) Identificación molecular de hongos filamentosos y su potencial biotecnológico. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 20: 194-206.
- Tapwal A, Pandey H (2016) *In vitro* evaluation of *Trichoderma* species for virulence efficacy on *Botryodiplodia palmarum* *Current Life Sciences* 2:86-91. DOI: 10.5281/zenodo.61073.
- Tian Y, Yu D, Liu N, Tang Y, Yan Z, Wu A (2020) Confrontation assays and mycotoxin treatment reveal antagonistic activities of *Trichoderma* and the fate of *Fusarium* mycotoxins in microbial interaction. *Environmental Pollution* 267: 115559. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.115559.
- Tomah AA, Abd-Alamer IS, Li B, Jing-Ze Z (2020) A new species of *Trichoderma* and gliotoxin role: A new observation in enhancing biocontrol potential of *T. virens* against *Phytophthora capsici* on chili pepper. *Biological Control* 145: 104261. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104261.
- Tyskiewicz R, Nowak A, Ozimek E, Jaroszuk-Ścisiel J (2022) *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences* 23(4): 2329. DOI: 10.3390/ijms23042329.
- Wang C, Zhuang W (2019) Evaluating effective *Trichoderma* isolates for biocontrol of *Rhizoctonia solani* causing root rot of *Vigna unguiculata*. *Journal of Integrative Agriculture* 18: 2072-2079.
- Woo SL, Ruocco M, Vinale F, Nigro M, Marra R, Lombardi N, Pascale A, Lanzuise S, Manganiello G, Lorito M (2014) *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *The Open Mycology Journal* 8 (Suppl-1, M4): 71-126.
- Wu K, Chen YW, Xu LH, Zhao LX (2016) Endophytic *Trichoderma gamsii* YIM PH30019: A promising biocontrol agent with hyperosmolar, mycoparasitism, and antagonistic activities of induced volatile organic compounds on root-rot pathogenic fungi of *Panax notoginseng*. *Journal of Ginseng Research* 40: 315-324.
- Zin NA, Badaluddin NA (2020) Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences* 65: 168-178.