



Antagonismo y eficacia de *Trichoderma* spp., sobre *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl procedente de sandía †

[Antagonism and efficacy of *Trichoderma* spp., on *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl from watermelon]

Jesús Orlando Pérez-González, Jorge Francisco León de la Rocha,
Ramiro Cejudo Valentin and Humberto Rafael Bravo-Delgado*

Universidad Tecnológica Tehuacán (UTT). Agricultura Sustentable y Protegida.
Prolongación del 1 sur No. 1101 San Pablo Tepetzingo C.P. 75859 Tehuacán,
Puebla, México. Emails: jesus.perez@uttehuacan.edu.mx;
jorge.leon@uttehuacan.edu.mx; ramiro.cejudo@uttehuacan.edu.mx,
rafael.bravo@uttehuacan.edu.mx*

*Corresponding author

SUMMARY

Background: Disease control using agrochemicals is often costly, harmful to the environment and human health, and can lead to pathogen resistance. Because of this, there has been a need to introduce new, effective, and safe alternatives that are not environmentally harmful, such as the use of beneficial, harmless organisms. **Objective.** To determine the effect of *Trichoderma* (T.) on *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl from watermelon under *in vitro* and shade mesh conditions. **Methodology.** The pathogen was isolated. Subsequently, the antagonistic capacity of *Trichoderma* was determined, antibiosis (56 h before hyphal contact between both fungi), competition for space (Bell *et al.* scale, and PICR, at 96 h), and mycoparasitism were evaluated by the Dual Culture method, and the efficacy of the antagonist on the pathogen was evaluated under semi-controlled conditions. **Results.** All *Trichoderma* strains and the isolate showed growth inhibition of the pathogens in CD (56 h) compared with the control; *T. viride* and *T. asperellum* were particularly notable. All strains were in class 2 of antagonism on the Bell *et al.* scale at 96 h (with more than 70 % inhibition of pathogen growth). At 120 h, *T. viride*, *T. harzianum*, and *T. asperellum* inhibited the pathogen by more than 50 %. At 168 h, *T. viride* and *T. harzianum* stood out with 72.20 and 65.53 %, respectively. The application of *T. viride* and *T. harzianum* showed decreases of 75.6% and 65.56%, respectively, in the incidence of the disease in watermelon seedlings. **Implications.** The findings from both trials indicated that *Trichoderma* is effective against *A. alternata*, and testing it in the open field will be crucial for its use in managing the causative agent. **Conclusions.** The strains *T. viride* and *T. harzianum* are established as promising due to their antibiosis, competition for space, mycoparasitism, and their effectiveness under shade mesh conditions.

Key words: mycoparasitism; biocontrol; *Trichoderma*; *Alternaria*.

RESUMEN

Antecedentes: El control de las enfermedades mediante aplicaciones de agroquímicos suelen ser costosas y perjudiciales para el medio ambiente y la salud humana, además de provocar resistencia en los patógenos. Debido a esto, se ha visto la necesidad de introducir nuevas alternativas efectivas y seguras no contaminantes al medio ambiente, como el uso de organismos benéficos e inocuos. **Objetivo.** Determinar el efecto de *Trichoderma* (T.) sobre *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl procedente de sandía en condiciones *in vitro* y malla sombra. **Metodología.** Se realizó el aislamiento del patógeno. Posteriormente se determinó la capacidad antagónica de *Trichoderma*, se evaluó la antibiosis (56 h antes del contacto hifal entre ambos hongos), la competencia por espacio (escala de Bell *et al.*, y el PICR, a las 96 h) y el micoparasitismo por el método de Cultivo Dual (CD), y se evaluó la eficacia del antagonista sobre el patógeno en condiciones semicontroladas. **Resultados.** Todas las cepas y el aislado de *Trichoderma*, manifestaron inhibición del crecimiento del patógeno en CD (56 h), comparados con el del testigo; destacándose *T. viride* y *T. asperellum*. Todas las cepas, se ubicaron en la clase 2 de antagonismo de la escala de Bell *et al.*, a las 96 h (con más del 70 % de inhibición del crecimiento del patógeno). A las 120 h *T. viride*, *T. harzianum* y *T. asperellum* inhibieron al patógeno en más del 50 %; mientras que, a las 168 h se destacan *T. viride* y *T. harzianum* con 72.20 y

† Submitted June 2, 2025 – Accepted May 19, 2026. <http://doi.org/10.56369/tsaes.6371>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = J.O. Pérez-González: <http://orcid.org/0000-0002-7510-7676>; J.F. León de la Rocha: <http://orcid.org/0000-0001-7063-8382>; R. Cejudo-Valentin: <http://orcid.org/0009-0003-6333-1050>; H.R. Bravo-Delgado: <http://orcid.org/0000-0002-9996-2861>

65.53 %, respectivamente. La aplicación de *T. viride* y *T. harzianum* mostraron disminución del 75.6 % y 65.56 %, respectivamente, de la incidencia de la enfermedad en las plántulas de sandía. **Implicaciones.** Los hallazgos visualizados en ambos ensayos indicaron que *Trichoderma* es eficiente frente a *A. alternata*, y el probarlas en campo abierto será determinante para su uso en el manejo del agente causal. **Conclusiones.** Se establecen como promisorias las cepas *T. viride* y *T. harzianum* por su antibiosis, competencia por espacio, micoparasitismo y por su eficacia en condiciones de malla sombra.

Palabras clave: micoparasitismo; biocontrol; *Trichoderma*; *Alternaria*.

INTRODUCCIÓN

La sandía [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai var. *lanatus*], conocida también como melón de agua o patilla, es una planta dicotiledónea, herbácea, rastrera y anual; que pertenece a la familia botánica Cucurbitaceae. Es originaria de África, donde aún la encontramos de forma silvestre (Giaconi, 1989) con datos de más de 4,000 años.

Sus aportes de vitaminas y minerales, hace que tenga una amplia demanda en el mercado mundial (Fila *et al.*, 2013). En 2021, su producción mundial superó los 101,000 millones de kilogramos, obtenidos sobre una superficie de 3,031,544 hectáreas; se estima que más de la mitad de esta producción fue obtenida por China (FAOSTAT, 2021). Actualmente, México ocupa la posición 12 como productor de sandía en el mundo, con un millón 177 mil 70 toneladas de la fruta, siendo Sonora, Jalisco y Chihuahua los principales productores de este fruto que se cultiva en casi todas las entidades federativas de la República mexicana. Cabe mencionar que, Sonora es considerado el estado líder con más de 373 mil 084 toneladas cosechadas en el 2023 (Frescas, 2024).

A pesar de los valores de rendimientos, el cultivo de sandía es altamente susceptible a determinados factores abióticos (radiación solar, temperaturas y humedad relativa alta) y bióticos (plagas y enfermedades) (FAO, 2011), los que provocan una disminución considerable en las cosechas. Estos últimos, constituyen la mayor limitante, específicamente las enfermedades causadas por hongos; cuando no se manejan bien algunas tácticas (Santos Díaz *et al.*, 2018). En este sentido, el género *Alternaria* es una de las enfermedades que afecta el desarrollo y rendimiento del cultivo; ya que, ataca toda la planta. Cuando se producen ataques severos del patógeno, la superficie foliar queda inutilizada, imposibilitándole a la planta realizar la fotosíntesis, lo que se traduce en un descenso en su rendimiento y calidad de los frutos (Agrios, 2006).

A nivel mundial, el control de las enfermedades se basa fundamentalmente en aplicaciones de agroquímicos (dosis y frecuencias elevadas), a pesar

de lo costoso y perjudicial que es para el medio ambiente (daño parcial o total a la vida microbiana, contaminación de los mantos freáticos) y la salud humana (productores y propios consumidores); además de provocar resistencia en los microorganismos (Gutierrez, Robles, Santillan, Ortiz, & Cambero, 2013). Debido a esto, se ha visto la necesidad de introducir nuevas alternativas efectivas y seguras (no contaminantes al medio ambiente), como el uso de organismos benéficos e inocuos (Cortés-Hernández *et al.*, 2023). En este sentido, las especies del género *Trichoderma* se han estudiado por más de siete décadas; por su efecto antagonista lo colocan como el agente favorito dentro del control de patógenos que afectan a los cultivos de importancia agrícola y económica, por lo que, podrían ser una opción para el manejo del tizón en el cultivo de sandía, debido a su fácil manipulación, rápida esporulación, amplia plasticidad ecológica (Cai *et al.*, 2020) y diferentes mecanismos de acción directa (antibiosis, competencia por sustrato o espacio, y el micoparasitismo) (Harman 2006; Guzmán-Guzmán *et al.*, 2019; Konappa *et al.*, 2022) e indirecta (adaptabilidad a los estreses bióticos y abióticos, estimulación del crecimiento vegetal, solubilización de nutrientes no asimilables, inducción de respuesta de defensa (Mendoza-Mendoza *et al.*, 2018), producción de sideróforos; mejora la nutrición de las plantas (Nykiel-Szymańska, 2020) y regula los patógenos). Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar la eficacia de *Trichoderma* contra *Alternaria alternata* (Fr.). Keissl en sandía en condiciones *in vitro* y malla sombra.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de los experimentos

Los experimentos se desarrollaron en el Laboratorio de microbiología de la empresa AGROCOSMOS HLP S.A DE C.V, situado en el municipio de Amacuzac, estado de Morelos, México y en la Universidad Tecnológica del Sur del estado de Morelos.

Procesamiento de muestras y aislamiento del patógeno

Para el análisis, las muestras vegetales sintomáticas de las distintas partes de la planta de sandía, primeramente, se lavaron con abundante agua potable; alrededor de una hora y después se secaron con papel adsorbente. Los fragmentos cortados con síntomas visibles (manchas redondeadas deprimidas y con borde color púrpura) y parte sana se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 1 % durante 15 segundos y alcohol al 70 % durante un min. Posteriormente entre cada desinfección y al final, las muestras se lavaron con agua destilada estéril por tres minutos y luego secaron en papel adsorbente estéril. Pasado cinco minutos, las muestras se sembraron en cajas Petri de 90 mm de diámetro con medio Papa Dextrosa Agar (PDA) (BD Bioxon) + antibiótico (cloranfenicol 0.1g L⁻¹) e incubaron a 25 °C. También, se hicieron cortes del tejido sano y enfermo y colocaron en cámara húmeda (cajas Petri de 150 mm de diámetro con papel adsorbente humedecido y esterilizado con anterioridad); en este caso, la incubación se realizó a temperatura ambiente. En ambos casos, las evaluaciones se realizaron diarias; hasta la aparición de estructuras fúngicas.

Posteriormente, se realizaron preparaciones fijas tomando fracciones de las estructuras fúngicas visibles (micelio y/o esporas), y se visualizaron al microscopio óptico con lente de 400 X (LABOMED, Inc., Estados Unidos); para corroborar la presencia de *Alternaria*, según Simmons (2007).

Ya identificado el agente causal de las manchas en sandía, bajo condiciones de asepsia en una cámara de flujo laminar (Biobase, modelo BKCB-H1500, China), con ayuda de un aza estéril se tomaron fragmentos (estructuras del patógeno) y sembraron en cajas Petri de 90 mm de diámetro con medio PDA (BD Bioxon) + antibiótico (cloranfenicol 0.1g L⁻¹) e incubaron a 25 °C. Las colonias crecidas se purificaron mediante pases sucesivos en el mismo medio, hasta obtener colonias puras. Posteriormente, se sembraron fragmentos de estas, en tubos de vidrio de 10 mL con medio PDA (BD Bioxon) (esterilizado previamente) en forma de cuña e incubaron por 10 días, en igual condiciones a las descritas anteriormente. Los aislamientos se conservaron a 4 °C.

Para obtener cultivos monospóricos de *Alternaria*, se vertieron en condiciones asépticas cajas Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo Agar agua

(AA) al 2 %. A tubos sembrados previamente con el patógeno crecido durante siete días, se le añadieron 10 mL de agua destilada estéril y se homogeneizaron en un agitador tipo Vortex (IKA Vortex 2, Alemania). A la suspensión conidial, se le determinó la concentración en una cámara de Neubauer (Marienfeld, Alemania) y ajustó aproximadamente a 10⁵ conidios. mL⁻¹. Se depositó una alícuota (10 µL) en las cajas Petri vertidas con medio AA; se dispersó con la ayuda de una espátula de metal y las placas se incubaron a 25 °C en oscuridad durante 72 horas. Pasado este tiempo, los conidios solitarios germinados fueron transferidos a una nueva caja Petri con medio de cultivo PDA; e incubaron en igual condiciones a la descritas anteriormente hasta que la colonia cubrió totalmente el área de la caja. Posteriormente, de estas, se tomaron fragmentos y sembraron en tubos de vidrio de 10 mL con medio PDA (BD Bioxon) (esterilizado previamente) en forma de cuña e incubaron por 10 días; en igual condiciones, y ya crecidos, se conservaron a 4 °C.

Pruebas de patogenicidad

Previamente el patógeno se sembró (un disco de 6 mm de diámetro) en cajas Petri de 90 mm de diámetro con medio PDA (BD Bioxon), e incubó a 25 °C; hasta que la colonia cubrió totalmente el área de la caja (Figura 1A). La patogenicidad de este patógeno se reactivó en hojas sanas de sandía del cultivar SAM 160069 F1, de 20 días de edad. Para ello, se inocularon por frotación cuatro hojas por el haz y dos por el envés, con una suspensión (obtenidas en condiciones asépticas) de *Alternaria* a una concentración de 1x10⁵ conidios. mL⁻¹ (cuantificada en cámara de Neubauer) con un hisopo de algodón estéril, diluido en 500 mL de agua destilada estéril más carburo de silicio (carborundum) al 1 %. Para garantizar una humedad óptima, las hojas se incubaron en cámara húmeda a 25 °C. Con la manifestación de los síntomas (necrosis en las hojas) y el desarrollo del hongo sobre el tejido vegetal se realizó el reaislamiento e identificación del hongo; así como para corroborar si se trataba del agente previamente inoculado, corroborando lo planteado en los postulados de Koch.

Evaluación de los modos de acción de *Trichoderma* spp., sobre *A. alternata*, en condiciones *in vitro*

Se utilizaron cepas de *T. viride* (*T. v*), *T. harzanium* (*T. h*), *T. asperellum* (*T. a*), *T. koniingii* (*T. k*), y *Trichoderma* sp. (*T. sp.*), procedentes del cepario de la Universidad Tecnológica del Sur del estado de

Morelos; obtenidas de zonas agroforestales aledañas al municipio de Amacuzac (San Andrés y Zacualpan). Las cepas y aislamiento de *Trichoderma* se multiplicaron (dos pases) en cajas Petri con medio PDA (BD (Bioxon) cinco días antes de realizar los experimentos y mantuvieron a 25 °C. Para *A. alternata* se utilizó el mismo medio, con cultivos crecidos 10 días antes; la condición de incubación se realizó igual a la descrita anteriormente.

La actividad antagónica de *Trichoderma* sobre *Alternaria*, se evaluó mediante el método del Cultivo Dual (CD); descrito por Martínez y Solano (1995). El experimento se realizó en cajas Petri de 90 mm con medio (15 mL) de PDA (BD Bioxon). Para ello, discos de cinco mm del patógeno y del antagonista se sembraron en una misma caja de forma opuesta a cinco mm del borde de la caja Petri. Las placas sembradas con ambos hongos (tres por variante) se sellaron con papel Parafilm®. Como controles se usaron placas (tres), sembradas en la misma posición que en el CD, pero sin el antagonista. Posterior, las placas se incubaron a 25 °C, condiciones requeridas para el crecimiento de *Alternaria*. Las evaluaciones del crecimiento (radio en mm) de ambos hongos se realizaron con una regla graduada, cada 24 horas hasta las 168 horas. Se utilizó un diseño completamente al azar. Se evaluaron los modos de acción: antibiosis, competencia por espacio y micoparasitismo.

Modos de acción

Antibiosis y competencia por espacio

El efecto antibiótico se determinó midiendo el crecimiento radial (mm) de la colonia de *Alternaria* con una regla graduada en el CD previo al contacto (56 h), entre los hongos, respecto al del testigo (CD sin el antagonista), para igual momento evaluativo (Martínez y Solano, 1995). La competencia por el espacio se determinó al comparar el crecimiento del aislamiento de *Alternaria*, en el CD con el del control. La clasificación como antagonista de las cepas y aislamiento de *Trichoderma* se realizó según la escala de clase referida por Bell *et al.* (1982). Pasada 168 horas, se determinó el Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno (PICR) según la fórmula de Samaniego *et al.* (1989):

$$\text{PICR} = (R1 - R2) / R1 \times 100$$

Donde, R1 es el crecimiento radial del patógeno en el control y R2 es el crecimiento radial del patógeno en enfrentamiento.

Los datos obtenidos en ambos ensayos se procesaron a través de un análisis de varianza simple (ANOVA) y las medias se compararon por una diferencia mínima significativa (LSD) Fisher, con un nivel de significación ($p \leq 0.05$), utilizando el paquete estadístico InfoStat Profesional versión 2,1 (Di-Rienzo *et al.*, 2017).

Micoparasitismo

El micoparasitismo se observó en la zona de contacto (96 h) entre ambos hongos (*Trichoderma-Alternaria*) y evaluó el tipo de interacción hifal (enrollamiento, adhesión, vacuolización, granulación, penetración, y lisis) (Chet *et al.*, 1981). Para ello, se tomaron muestras con cinta adhesiva de la zona de interacción y colocaron sobre un portaobjeto con una gota de lactofenol-azul de algodón (dilución de 100 mL). Las muestras se observaron en un microscopio óptico (400 X). Se realizaron tres preparaciones (tres réplicas) por unidad experimental (caja Petri). Las observaciones se documentaron mediante fotos con una cámara digital (20 MP) (Canon® PowerShot ELPH 180 8X (Proveedor Costa Rica).

Efecto de las cepas seleccionadas de *Trichoderma* sobre *Alternaria* procedente de sandía en condiciones de malla sombra

El experimento se realizó en una casa de malla sombra, de la empresa AGROCOSMOS HLP S.A DE C.V, situado en el municipio de Amacuzac, Morelos, México. Durante la fase vegetativa del cultivo de sandía c.v. SAM 160069 F1 se registraron valores promedios de 25 °C durante el día y 65 % de humedad relativa; condiciones climáticas adecuadas tanto para el cultivo como para la actividad de las cepas de *Trichoderma* (Lewis y Papavizas, 1983; Reyes, 2011).

Para el ensayo se utilizaron bolsas de polipropileno de 10 kg (30 × 32 cm) que contenían una mezcla de suelo, Peat Moss (turba de Sphagnum) y materia orgánica (M.O) (estiércol vacuno) en proporción 2:1:1 (p:p:p), previamente esterilizados en autoclave (30 min, 120 °C, dos veces consecutivas, con un intervalo de 24 h). De manera complementaria, el suelo fue cubierto con una manta oscura para favorecer el proceso de desinfección.

Se evaluaron dos cepas (*T. v* y *T. h*), las seleccionadas del ensayo anterior con el mayor porcentaje de inhibición sobre el crecimiento del patógeno. Las cepas de *Trichoderma* y *Alternaria* se sembraron previamente en cajas Petri de 90 mm de diámetro con medio PDA (BD Bioxon) e incubaron a 25 °C, durante cuatro y siete días, respectivamente, hasta completar el área total de la placa y maduración de sus esporas.

Los inóculos (suspensión conidial de ambos hongos) a aplicar se prepararon bajo condiciones de asepsia, en una cámara de flujo laminar, a partir de las colonias desarrolladas anteriormente. Para ello, a cada colonia, de forma individual, se le adicionaron 10 mL de agua destilada estéril y con una espátula metálica se desprendió el micelio para obtener una suspensión de conidios, las que se homogenizaron con un agitador y ajustaron a una concentración de 1×10^5 (patógeno) y 1×10^7 (cepas de *Trichoderma*) conidios. mL⁻¹, respectivamente. Previo a la aplicación, a cada inóculo se le adicionaron tres gotas de Tween 20 y aceite mineral como coadyuvante para mejorar la dispersión del inóculo y adherencia de las esporas a la planta. Se homogenizaron en un agitador tipo Vortex.

Para la obtención de las plántulas, se utilizaron semillas de sandía c.v. SAM 160069 F1 (Figura 1 A), con 100 % de germinación (obtenidas en la empresa Hortalizas semillas Fitó México). Las semillas se sembraron en charolas de unicel (recipientes ligeros y aislantes hechos de Poliestireno Expandido (EPS), comúnmente usados en agricultura para germinar

semillas de 200 cavidades. dos por cada cavidad a una profundidad de 1 cm; con sustrato Peat Moss + M.O (v/v 3:1), en proporción 3:1 (p:p), previamente esterilizados en autoclave (30 min, 120 °C, dos veces consecutivas, cada 24 h). (Figura 1 B). Seguidamente, las charolas se colocaron en el área experimental (malla sombra) y regaron cada tercer día hasta la emergencia de las plántulas. Dieciséis días después de la emergencia en la charola, las plántulas se trasplantaron a bolsas de 10 kg y se mantuvieron en el área experimental (Figura 1 C). Las plantas fueron tutoradas. El experimento contó de tres tratamientos (1 y 2, cepas de *Trichoderma* y un tercero como testigo), cada uno con 12 repeticiones. En este caso, las plantas solo fueron tratadas con agua destilada estéril, al mismo momento de inocular *Trichoderma*.

Treinta y tres días después del trasplante, las plantas se inocularon con la suspensión de esporas del patógeno a una concentración de 1×10^5 UFC. mL⁻¹ con un hisopo de algodón estéril, diluido en 500 mL de agua destilada estéril más carburo de silicio (carborundum) al 1 %. Para garantizar condiciones de humedad (alrededor del 90 %), las plantas se colocaron en bolsas de nylon transparentes con un algodón embebido en agua destilada y estéril, durante tres días. Las aspersiones al follaje con las suspensiones de las cepas seleccionadas de *Trichoderma* se iniciaron a partir de la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad a una concentración de 1×10^7 UFC. mL⁻¹ de forma individual; se empleó un atomizador para cada cepa.



Figura 1. A). Empaque comercial de semillas cv. SAM 160069 F1 (Semillas Fitó). utilizadas para germinación en charola, B) Desarrollo vegetativo inicial de plántulas de sandía, en charolas, C) Plántulas de sandía trasplantadas a las bolsas. Fuente: fotografías de autoría propia.

La efectividad de las cepas de *Trichoderma* sobre la enfermedad se determinó a través de evaluaciones visuales del área foliar afectada, clasificando las hojas sanas y la intensidad de los síntomas típicos. Para este último se utilizó una escala de cinco grados: 0) planta sana 1) las manchas ocupan de 1 % hasta un 10 % de la superficie de la hoja; 2) las manchas ocupan entre el 11 y 25 % de la superficie de la hoja; 3) las manchas ocupan entre 26 y 50 % y 4) las manchas ocupan más del 50 % de la superficie de las hojas afectadas (Mijailova *et al.*, 1982).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del patógeno

Patogenicidad. Pasados nueve días de la inoculación se apreciaron pequeñas manchas circulares oscuras, quienes crecieron rápidamente y se tornaron de color café a negro; con anillos concéntricos (Figura 2 A). Los aislamientos fúngicos derivados de los síntomas, presentaron conidióforos simples, tabicados, de forma alargada u ovoide (Figura 2 B). En el extremo del conidióforo se formaron unos conidios de color pardo, con septos transversales y verticales de disposición irregular. La reproducción se observó por gemación de la célula apical, a partir de la cual se generaron nuevos conidios, formándose así largas cadenas de conidios (Figura 2 C). Teniendo en cuenta todas las características observadas, el aislado se identificó como *A. alternata*, según Simmons (2007).

Evaluación de los modos de acción de *Trichoderma* frente al agente fitopatógeno

Antibiosis

De manera general, justo antes del contacto físico entre ambos hongos (antagonista-patógeno; a las 56 horas), el aislado de *A. alternata* mostró un efecto inhibitorio del crecimiento en CD, en comparación con el del testigo (Figura 3), debido posiblemente en la liberación de metabolitos secundarios (considerados antibióticos) por *Trichoderma*. Sin embargo, solo la cepa *T. koningii* y el aislado de *Trichoderma* (*T. sp*) mostraron un marcado efecto inhibitorio frente al patógeno. Este aspecto denota la importancia en los procesos de selección de cepas del antagonista.

Diversos estudios han confirmado que, las especies de *Trichoderma* excretan al medio compuestos antibióticos (volátiles o no), con efecto fungistático o fungicida que inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos (Gakegne y Martínez-Coca, 2018), en algunos casos antes del contacto físico (Hjeljord y Troonsmo, 1998). En este sentido, Martínez (1998) informó que, los antibióticos volátiles con efecto fungistático, excretados al medio por el antagonista, debilitan al patógeno y lo hacen más sensible a los metabolitos solubles en el medio. Por lo antes expuesto,

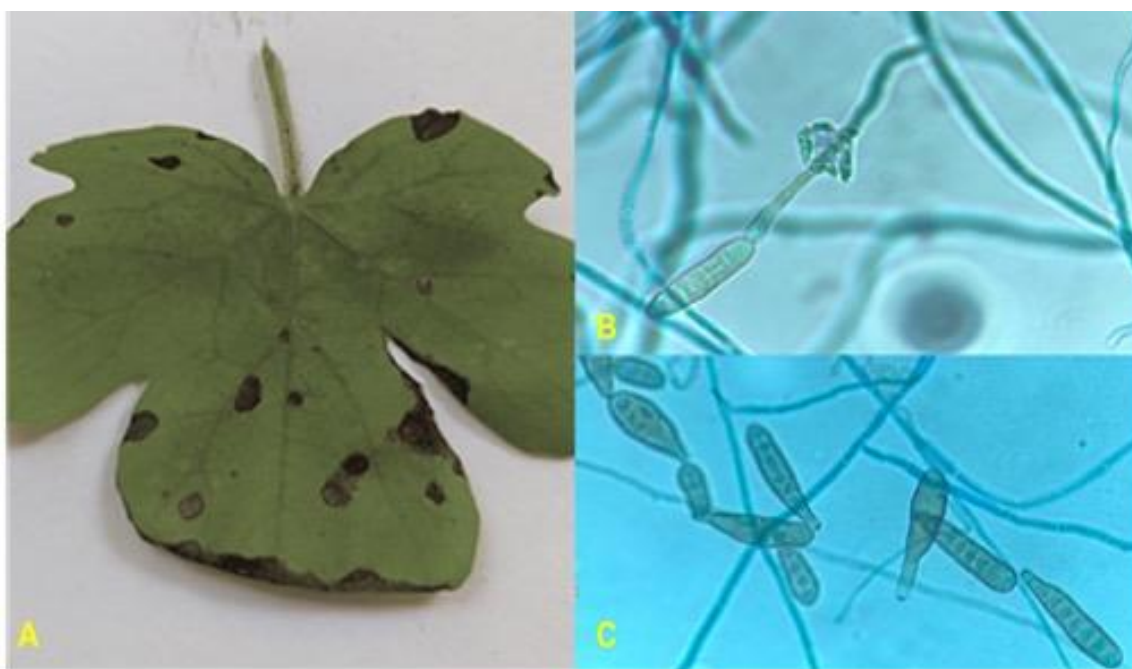


Figura 2. A). Síntomas foliares y caracteres morfológicos (conidióforos_B y conidios simples y en cadena_C) de *A. alternata* observados en microscopía. Fuente: Fotografía de autoría propia.

se puede afirmar que, la antibiosis es uno de los mecanismos principales de *Trichoderma* ya que, sin estar en contacto con el agente fitopatógeno, su efecto biocontrolador es evidente. Según, Parmar *et al.* (2015), las especies de *Trichoderma* producen compuestos con actividad antifúngica (metabolitos volátiles) como: trichodermin, trichodermol, paracelsin a-d, trichobrachim y toxina T-2; entre otros. Por consiguiente, Pérez-Consuegra (2004) declaró que, cuando *Trichoderma* se aplica al follaje, su efecto antagonista se denota en el momento en que se detiene la infección ósea la germinación de las esporas del hongo presente (se detiene la afectación por el ataque); probablemente dado a la liberación de metabolitos durante el proceso de germinación de las esporas del antagonista.

Competencia por espacio

Todas las cepas y el aislado de *Trichoderma* presentaron un evidente efecto antagonista, con alta competitividad por el espacio, sobre el aislado de *A. alternata* procedente de sandía. Cabe destacar, que la velocidad de crecimiento de las cepas y el aislado de *Trichoderma* varió entre 0.77 y 0.80 mm.h⁻¹, mientras que, la de *A. alternata* fue de 0.22 mm.h⁻¹. La diferencia en la velocidad de crecimiento entre ambos hongos (antagonista y patógeno) es la causa fundamental por la que *Trichoderma* ocupa con mayor rapidez gran parte del área de la caja, reflejando así su alta competencia por el espacio. No obstante, no se debe descartar, la acción de varios metabolitos (volátiles y no volátiles) que presenta *Trichoderma*, y son excretados durante la confrontación con otros hongos en CD (Martínez, 1998); con los que también, logra frenar su establecimiento (patógeno).

A partir de las 72 horas en confrontación de *Trichoderma* con *Alternaria*, las cepas y aislado de *Trichoderma* comenzaron a crecer sobre la colonia del patógeno, mostrando un crecimiento de más del 80 % de la superficie (colonia de *Alternaria*) a las 96 horas. De acuerdo a estos resultados, los aislamientos del antagonista se ubican en el grado 2 de la escala de Bell *et al.* (1982). Morales-Mora *et al.* (2020) declaran que este retardo en la acción antagónica de *Trichoderma*, pudiera deberse a posible acción de enzimas del patógeno. Dicho aspecto, pudiera ser una de las causas por lo que, existan algunos aislados de *Trichoderma* que necesiten mayor tiempo para demostrar sus potencialidades en la competencia por el sustrato. De aquí la necesidad de realizar estos estudios (*in vitro*), a fin de garantizar una aplicación

eficiente y segura; ya que, es un elemento a tener en cuenta en la selección de un biocontrol frente a un determinado patógeno. Estos resultados se asemejan a los informados por Michel-Aceves *et al.* (2019) quienes declararon grado 2 para cinco cepas de *Trichoderma* spp., sobre *Phytophthora parasitica* Dastur y *Fusarium oxysporum* a los tres y cuatro días en CD. No concuerdan con los reportados por Andrade-Hoyos *et al.* (2020) quienes declaran grado 1 de la escala de Bell *et al.*, para *T. harzianum*, *T. viride* y *T. asperellum* sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands; llegando a cubrir la caja Petri a las 80 horas después de la siembra.

En todos los tratamientos, se evidenció un incremento del área colonizada por *Trichoderma* en el tiempo, frente a la del patógeno; esto se debió, a que, en gran medida las especies de *Trichoderma* tienen mayor velocidad de crecimiento que los aislados fitopatógenos (aspecto que les permite mayor colonización de los sustratos), como refieren Michel-Aceves *et al.* (2019), Guigón-López *et al.* (2010) y Ramírez-Delgado *et al.* (2018).

También, fue evidente una abundante esporulación de las cepas sobre la colonia del patógeno y en la zona del contacto entre ambos microorganismos; esto permitió la formación de una “barrera” que limitó posteriormente el crecimiento de *Alternaria*, cuando fueron comparados con el del control. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Ahmad *et al.* (2012) y Michel-Aceves *et al.* (2019), quienes evidenciaron en condiciones de CD, mayor crecimiento por parte de *T. harzianum* y tres cepas de *Trichoderma* spp., respectivamente sobre los patógenos en estudio. Por su parte, Abo-Elyousr *et al.* (2014) también, evidenciaron que al enfrentarse *Alternaria Porri* (Ellis) Ciferri contra *T. harzianum*, el fitopatógeno detuvo su crecimiento y el antagonista mostro mayor capacidad competitiva por espacio y nutrientes.

Por su parte, otros autores declaran que, *Trichoderma* spp., compite por espacio y nutrientes proporcionando un efecto indirecto de reducción del crecimiento radial del patógeno, al ocupar su espacio y extraer los suministros de nutrientes (Michel-Aceves *et al.*, 2019). Según lo antes mencionado, se puede considerar este modo de acción, como un atributo vital por su acción, ya que, al colonizar con mayor rapidez la zona rizosférica, permite limitar o detener el establecimiento y la proliferación de los patógenos presentes en él.

A las 120 horas las cepas de *T. v.*, *T. h.* y *T. a.*, mostraron los mayores porcentajes de inhibición (más del 50 %); con diferencias significativas con el resto.

Mientras que, a las 168 horas solo *T. v* y *T. h* mostraron inhibición de los patógenos en más del 60 % (Figura 3 A y B); aspecto que permite ser considerados como agentes potenciales de control biológico contra el hongo patógeno causal del tizón en el cultivo de Sandía. Esto podría estar asociado a la excreción de metabolitos producidos por el patógeno. En este caso, Petrisor (2016) demostró que la liberación de aligómeros por parte del patógeno puede provocar la excreción de endoquitinasas del micoparásito, estas, una vez liberadas, se difunden y hacen que *Trichoderma* comience el ataque al hongo diana, en horas tempranas del enfrentamiento. Estos resultados se asemejan a los obtenidos por Suárez *et al.* (2008), quienes demostraron que *Trichoderma* ocasionó un porcentaje de inhibición del 50 % sobre patógenos del género *Fusarium*. Camacho-Luna *et al.* (2021), observaron 56 % de inhibición del crecimiento de *A. porri* con una cepa de *T. asperellum*. Por otra parte, Michel-Aceves *et al.* (2019) informaron una inhibición del 70 % del

crecimiento de los patógenos en estudio frente a 5 cepas de *Trichoderma* spp., semejantes a lo obtenido para la cepa *T. viride* del estudio.

Los porcentajes de inhibición presentados en la Tabla 1 obtenidos para el patógeno con las cepas *T. viride* y *T. harzianum*, indican que ambas poseen una tasa de incorporación de nutrientes y un metabolismo superior a *A. alternata*, así como diversidad de formas de excreción de enzimas hidrolíticas; entre ellas celulasas, quitinasas, glucanasas, xylasas y proteasas; las cuales pueden estar implicadas en los mecanismos de biocontrol, permitiéndoles aprovechar mejor los nutrientes del medio y privar al patógeno de utilizar los recursos (Michel-Aceves *et al.*, 2005). Por su parte, Andrade-Hoyos *et al.* (2020) han puntualizado que, *T. harzianum* es capaz de inhibir del crecimiento de una amplia gama de fitopatógenos también, por la acción de numerosos antibióticos como: tricondermina, suzukacilina, alameticina, dermadina, penicilina, tricotecenos, tricorzianinas, entre otros.

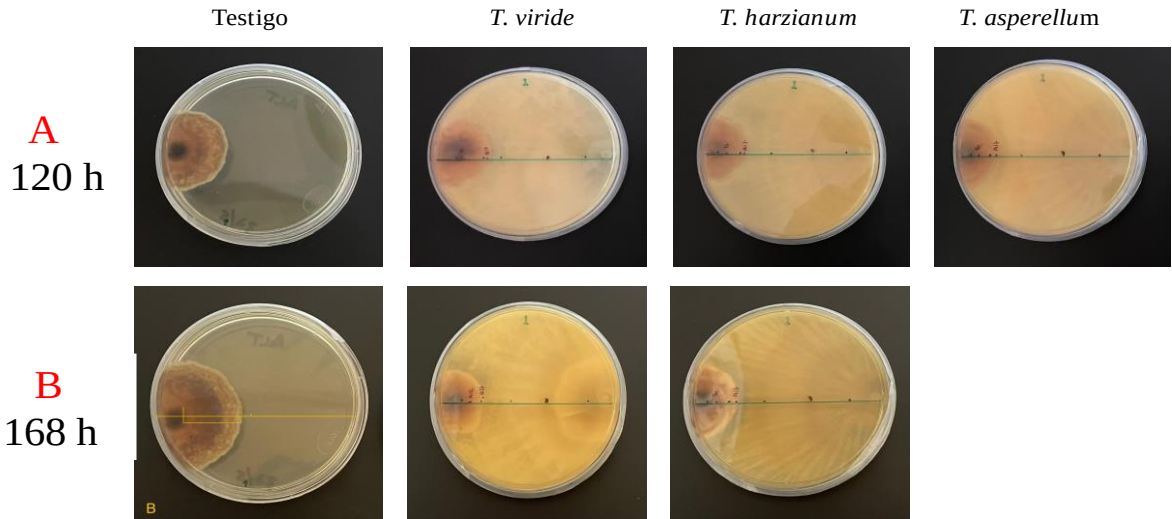


Figura 3. Inhibición del crecimiento del patógeno a las 120 horas (A) y 168 horas (B) en CD, frente a *Trichoderma*. Fuente: Fotografía de autoría propia.

Tabla 1. Inhibición del crecimiento radial de *Alternaria* frente a *Trichoderma* spp., desde 96 horas hasta las 168 horas.

Tratamientos de <i>Trichoderma</i>	PICR del aislado de <i>Alternaria alternata</i>			
	96 horas	120 horas	144 horas	168 horas
<i>Trichoderma viride</i>	56.23a	70.50a	68.95a	72.29a
<i>Trichoderma harzianum</i>	49.14a	63.89ab	60.92b	65.53b
<i>Trichoderma asperellum</i>	34.57b	55.81b	51.66c	52.41c
<i>Trichoderma koningii</i>	24.69 bc	38.55c	38.61d	45.50d
<i>Trichoderma</i> sp.	21.12c	37.63c	35.95d	43.26d
CV	14.70	8.80	7.68	4.11
DMS	9.94	8.53	7.15	4.17

Medias con letras iguales, en la misma columna, no son diferentes según la prueba de LSD Fisher ($p \leq 0.05$). CV: coeficiente de variación, DMS: diferencia mínima significativa.

Micoparasitismo

La Figura 4 muestra las interacciones hifales entre los tratamientos de *Trichoderma* spp., y *A. alternata*. Se pudo observar que todos los *Trichoderma* evaluados presentaron al menos tres tipos de interacción hifal sobre el fitopatógeno en estudio (Tabla 2), con predominio del enrollamiento, la penetración y la lisis de la pared celular; esta última que conllevó a la pérdida del contenido citoplasmático. Estos resultados se asemejan a los informados por Gakegne y Martínez-Coca (2018) quienes observaron predominio de micoparasitismo, granulación, lisis y vacuolización en confrontaciones de *T. asperellum* frente a *A. solani* proveniente de tomate. Camacho-Luna *et al.* (2021) observaron presencia también de estos eventos sobre *A. porri* al enfrentarse a una cepa de *T. asperellum*. Esto reafirma, la elevada capacidad micoparasítica de los *Trichoderma* estudiados frente a *A. alternata*.

Las interacciones hifales (penetración, deformación, desintegración y lisis) que intervienen en el proceso parasítico, son mediadas por la actividad enzimática del antagonista (Zeilinger y Atanasova, 2020; Vicente *et al.*, 2022), por ende, aquellas cepas que presentan un elevado potencial enzimático poseen mayor efecto micoparasítico (González *et al.*, 2012). De aquí la importancia de la selección de cepas y/o especies con varios tipos de interacciones hifales; que posibilitan mejor biocontrol sobre el patógeno a manejar.

Tabla 2. Tipos de interacciones hifales entre *Trichoderma* spp., y el aislado de *A. alternata*, observadas al microscopio óptico, con lente de 400 X.

Cepas	Tipos de interacciones hifales
<i>Trichoderma viride</i>	E-P-V-L
<i>Trichoderma harzianum</i>	E-P-V-L
<i>Trichoderma asperellum</i>	E-P-V-L
<i>Trichoderma koningii</i>	E-P-L
<i>Trichoderma</i> sp.	E-P-L

Leyenda: (E) Enrollamiento, (P) Penetración, (V) Vacuolización, (L) Lisis.

Los eventos que se observaron en el micoparasitismo de *Trichoderma* vs *A. alternata* se han descrito en otras interacciones entre el antagonista y hongos patógenos, y se conoce que es un proceso complejo que involucra la síntesis y reconocimiento de moléculas, la formación de estructuras infectivas y la producción de enzimas y metabolitos antibióticos que dan como resultado la muerte del patógeno (Contreras-Cornejo *et al.*, 2016; Guzmán-Guzmán *et al.*, 2019).

Al integrar los resultados de los modos de acción de las cepas de *Trichoderma* frente al patógeno de *A. alternata*, se destacan las cepas de *T. viride* y *T. harzianum* como promisorias por su antibiosis, capacidad de competencia y micoparasitismo; aspecto a corroborar en condiciones semicontroladas.

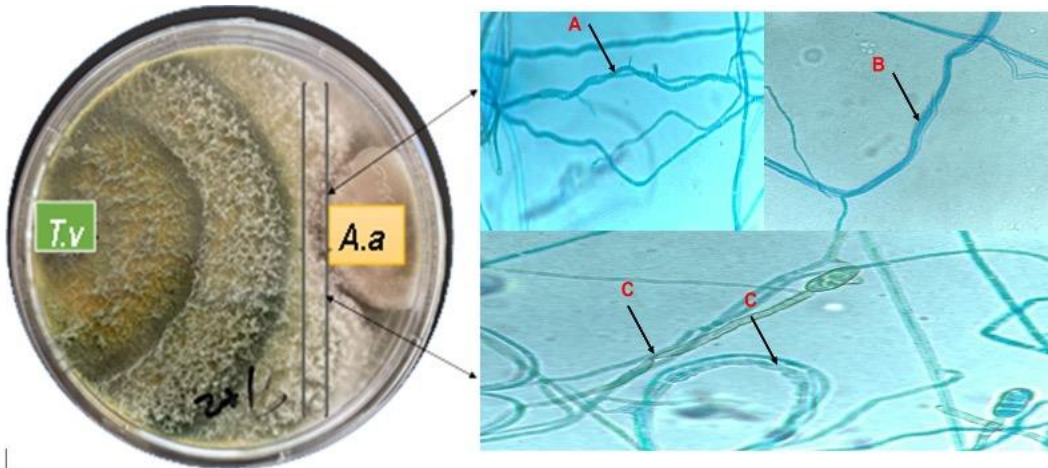


Figura 4. Tipos de interacciones hifales de *Trichoderma* sobre *A. alternata*, observadas al microscopio óptico, con lente de 400 X. A) Enrollamiento de hifas del patógeno, B) Penetración de las hifas del patógeno, C) Granulación y lisis de la pared celular del patógeno. Fuente: Fotografía de autoría propia.

Efecto de las cepas seleccionadas de *Trichoderma* sobre *Alternaria* procedente de sandía en condiciones de malla sombra

Para evaluar la eficacia de *Trichoderma*, se tomaron las cepas de *T. viride* y *T. harzianum* (mayor porcentaje de inhibición del crecimiento radial sobre el patógeno), del ensayo anterior.

En las plantas no tratadas con *Trichoderma* e inoculadas con *A. alternata*, la necrosis foliar alcanzó el nivel 2 (~ 13 %) (Figura 5), según la escala propuesta por Bokhari y Perveen (2013), aunque no hubo manifestación de plantas muertas. Por el contrario, en las plantas tratadas con las cepas del antagonista (*T. viride* y *T. harzianum*) se evidenció una reducción de la enfermedad de un 75.56 % y 65.56 %, respectivamente, difiriendo estadísticamente significativamente ($p \leq 0.05$) entre ellas y con las del control (Tabla 3). Cabe destacar que, las plantas no tratadas con el antagonista presentaron menor crecimiento que las tratadas, esto pudiera estar dado, a la reducción del área fotosintética del cultivo por el ataque del patógeno. Algunos autores declaran que, las afectaciones de los patógenos a las plantas reducen su crecimiento en dependencia del lugar de ataque (Agrios, 2006). Por el contrario, las plantas

tratadas mostraron mayor crecimiento y adaptabilidad, en este sentido, Hoyos-Carvajal *et al.* (2009) declaran que, *Trichoderma* además de su acción sobre el control de patógenos, también, algunas especies son capaces de producir metabolitos que estimulan el crecimiento de las plantas. Por su parte, Rodríguez-García y Vargas-Rojas (2022) informaron que, *Trichoderma* estimula el crecimiento de raíces y pelos absorbentes del tomate; de esta manera mejora la absorción de nutrientes y agua, lo cual se traduce en mayor crecimiento y tolerancia a los distintos estreses bióticos y abióticos.

Tabla 3. Porcentaje de hojas sanas por efecto de *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum*.

Tratamientos	Hojas Sanas (%)
<i>Trichoderma viride</i>	75.56a
<i>Trichoderma harzianum</i>	65.56b
Control	3.33c
CV	17.19
DMS	8.05353

Medias con letras iguales, en la misma columna, no son diferentes según la prueba de LSD Fisher ($p \leq 0.05$). CV: coeficiente de variación, DMS: diferencia mínima significativa.



Figura 5: A; Testigo con síntomas de infección en hojas; B y C; Tratamiento con *T. viride* y *T. harzianum*. Fuente: Fotografía de autoría propia.

Por su parte, Hoyos-Carvajal *et al.* (2009) sugieren que la estimulación del crecimiento de las plantas por *Trichoderma* se asocia con la inducción de auxinas, especialmente el ácido indol-3-acético (AIA) y la activación de la enzima H⁺-ATPasa de la membrana plasmática; ambas involucradas en la promoción del crecimiento celular, el alargamiento de la planta y el desarrollo radicular y, con ello, la asimilación de nutrientes en un mayor radio, tanto durante las interacciones simbióticas como patogénicas con las plantas (Martínez-Medina *et al.*, 2014).

Aunque no fue objeto de análisis *in vitro*, es posible, que estos microorganismos al ser aplicados provocaron una inducción de resistencia en la planta, mediante la síntesis de compuestos antifúngicos o de defensa que conllevaron a la disminución de intensidad de la enfermedad. En este sentido, Rojan *et al.* (2010), observaron que *Trichoderma* estimuló mecanismos de defensa en las plantas y no solo para patógenos radicales, sino aéreos, y que estos mecanismos se asemejan a los de la RSA o RSI (Díaz-Puentes, 2012).

CONCLUSIONES

Al integrar los resultados obtenidos en los ensayos realizados de *Trichoderma* sobre *A. alternata* procedente de sandía, en condiciones *in vitro* y malla sombra, sobresalen las cepas *T. viride* y *T. harzianum* por su antibiosis, competencia por espacio, micoparasitismo y por su eficacia en condiciones controladas. Estos resultados se ajustan a la tendencia actual del desarrollo agrícola, ya que la selección de cepas para su aplicación son elementos básicos de gran importancia para la obtención de un producto bioplaguicida, que mantenga resultados estables, confiables y seguros para el control del Tizón en condiciones de campo.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a la Universidad Tecnológica de Tehuacán y la Universidad Tecnológica del Estado Sur de Morelos, quienes, a través de su apoyo constante para la realización de proyectos de investigación, permiten contribuir positivamente al desarrollo de estudios científicos en Agricultura Sustentable y Protegida.

Funding. This research work was founded by Universidad Tecnológica de Tehuacán y la Universidad Tecnológica del Estado Sur de Morelos.

Conflict of interest. There is no conflict of interest to declare

Compliance with ethical standards. Due to the nature of this work, this research does not require approval from an ethical committee.

Data availability. Data is available with the corresponding author upon reasonable request.

Author contribution statement (CRediT). J.O. Pérez – Conceptualization, investigation, visualization, formal analysis, writing-original draft., J.F. León – Supervision, writing-original draft., S.G. Ramírez – Writing-original draft, investigation, supervision, D. Rafael – Conceptualization, investigation., H.R. Bravo – formal analysis, Writing-original draft, writing-review & editing.

REFERENCES

- Abo-Elyousr, K.A.M., Abdel-Hafez, S.I.I., Abdel-Rahim, I.R., 2014. Isolation of *Trichoderma* and evaluation of their antagonistic potential against *Alternaria porri*. *Journal of Phytopathology*, 162(9), 567–574. <https://doi.org/10.1111/jph.12228>
- Agrios G.N., 2006. Plant Pathology. 5 Edition. Elsevier the Academic Press, London pp. 838. https://booksite.elsevier.com/samplechapters/9780120445653/0120445654_FM.pdf
- Ahmad, I., Bhagat, S., Kumar, K., Birah, A., Tripathi, A.K., Madhuri, K., *et al.*, 2012. PCR-RFLP marker based DNA amplified fragments and diversity assessment of *Trichoderma* spp. from Andaman and Nicobar Islands. *Journal Mycopathological Research*, 50 (1), pp. 55-59. <https://imskolkata.org/article1/008-04-12.pdf>
- Andrade-Hoyos, P., Silva-Rojas, H.V., Romero-Arenas, O., 2020. Endophytic *Trichoderma* Species Isolated from *Persea americana* and *Cinnamomum verum* Roots Reduce Symptoms Caused by *Phytophthora cinnamomi* in avocado. *Plants*, 9 (9), pp. 1220. <https://doi.org/10.3390/plants9091220>
- Bell, D.K., Wells, H.D., Markham, C.R., 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. Against six fungal plant pathogens. *Ecology and Epidemiology*, 72(4), pp. 379-382. <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379>
- Bokhari, N.A., Perveen, K., 2013. Antagonistic action of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Fusarium solani* causing root rot of tomato. *African Journal of Microbiology Research*, 6(44), pp. 7193-

7197.
<https://academicjournals.org/journal/AJMR/article-full-text-pdf/870365E17734>
- Cai, M., Idrees, M., Zhou, Y., Zhang, C., Xu, J., 2020. First report of green mold disease caused by *Trichoderma hengshanicum* on *Ganoderma lingzhi*. *Mycobiology*, 48(5), pp. 427-430. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1794230>
- Camacho-Luna, V., Flores-Moctezuma, H.E., Rodríguez-Monroy, M., Montes-Belmont, R., Sepúlveda-Jiménez, M. G., 2021. Inducción de la respuesta de defensa de plantas de cebolla en la interacción con *Trichoderma asperellum* y *Alternaria porri*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(4), pp. 685-698. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i4.2683>
- Chet, I., Harman, G.E., Baker, R., 1981. *Trichoderma hamatum*: its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microbial Ecology*, 7, pp. 29-38. <https://doi.org/10.1007/BF02010476>
- Contreras-Cornejo, H.A., Macías-Rodríguez, L., del Valle, E., Larsen, J., 2016. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(4), pp. 1-21. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw036>
- Cortés-Hernández, F., Alvarado-Castillo, G., Sánchez-Viveros, G., 2023. *Trichoderma* spp., una alternativa para la agricultura sostenible: una revisión. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 25(2), pp. 73-87. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v25n2.111384>
- Di-Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W., 2017. InfoStat Profesional versión 2.1. [programa informático]. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar/>
- Díaz-Puentes, L., 2012. Resistencia sistémica adquirida mediada por el ácido salicílico. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(2), pp. 257-267.
- FAO, O. de las N. U. para la A. y la A., 2011. El Estado de los recursos de tierras y aguas del mundo para la alimentación y la agricultura from <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/de4b9d76-34c0-4a54-ba5a-a4d84f89c3da/content/cb7654es.html>.
- FAOSTAT., 2021. Crops and livestock products database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Fila, W. A., E. H. Itam y otros cinco autores., 2013. Comparative Proximate Compositions of Watermelon *Citrullus Lanatus*, Squash *Cucurbita Pepo* l and Rambutan *Nephelium Lappaceum*, *International Journal of Science and Technology*, 2(1), pp.81-88.
- Frescas, G., 2024. Alta calidad: Sonora es líder en producción de Sandía. El Sol de Hermosillo. <https://www.elsoldehermosillo.com.mx/local/agro-2024-alta-calidad-sonora-es-lider-en-produccion-de-sandia-11323859.html>
- Gakegne, R.E., Martínez-Coca, B., 2018. Antibiosis y efecto de pH-temperatura sobre el antagonismo de cepas de *Trichoderma asperellum* frente a *Alternaria solani*. *Revista de Protección Vegetal*, 33(2), pp. 1-9. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522018000200008&lng=es&tlng=es
- Giaconi, M.V., 1989. *Cultivo de hortalizas*. Santiago, Chile.: Editorial Universitaria.
- González, I., Infante, I., Martínez, B., Arias, Y., González, N., Miranda, I., Peteira, B., 2012. Inducción de quitinasas y glucanasas en cepas de *Trichoderma* spp. promisorias como agentes para el control biológico. *Biotecnología Aplicada*, 29, pp. 12-16. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-28522012000100002&lng=es&tlng=en.
- Guigón-López, C.V., Guerrero-Prieto, F., Vargas-Albores, E., Carvajal-Millán, G.D., Ávila-Quezada, L., Bravo-Luna, M., Ruocco, S., Lanzuise, S., Woo, M. L., 2010. Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento in vitro y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2), pp. 87-96. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092010000200002&lng=es&tlng=es

- Gutierrez, A., Robles, A., Santillan, C., Ortiz, M., & Cambero, O., 2013. Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México. *Revista Bio Ciencias*, 2(3), pp.102–112. <https://doi.org/10.15741/revbio>
- Guzmán-Guzmán P., Porras-Troncoso, M.D., Olmedo-Monfil, V., Herrera-Estrella, A., 2019. *Trichoderma* species versatile plant symbionts. *Phytopathology*, 109(1), pp. 6-16. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-18-0218-RVW>
- Harman G.E., 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), pp. 190-194. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>
- Hjeljord, L., Troonsmo, A., 1998. *Trichoderma* and Gliocladium in biological control: an overview. In: Harman GE, Kubice KCP. Edicion. *Trichoderma & Gliocladium*. Volumen 2. Enzymes, biological control and commercial applications. Taylor & Francis Ltd., London, UK, pp. 131-151. <https://doi.org/10.1201/9781482267945>
- Hoyos-Carvajal, L., Orduz, S., Bissett, J., 2009. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological control*, 51(3), pp. 409-416. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.07.018>
- Konappa, N., Arakere, U.C., Krishnamurthy, S., Chowdappa, S., Jogaiah, S., 2022. Exploring the potential role of *Trichoderma* as friends of plants foes for bacterial plant pathogens. In *Biopesticides*. pp. 383-399. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823355-9.00002-X>
- Lewis, J.A., Papavizas, G.C., 1983. Production of chlamydospores and conidia by *Trichoderma* spp. in liquid and solid growth media. *Soil Biology & Biochem*, 15: 351-357.
- Martínez-Medina, A., Alguacil, M.D., Pascual, J.A., Van-Wees, S.C., 2014. Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth promoting activity on melon plants. *Journal of Chemical Ecology*, 40(7), pp. 804-815. <https://doi.org/10.1007/s10886-014-0478-1>
- Martínez, B., Solano, T., 1995. Antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria solani* (Ellis & Martin) Jones y Grouet. *Revista de Protección Vegetal*, 10(3), pp. 221-225. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v41n3/2007-8080-rmfi-41-03-514-es.pdf>
- Martínez, J.T., 1998. Uso de *Trichoderma* para el control biológico de organismos patógenos de plantas. En Memorias del Simposio sobre Agricultura Orgánica y de baja residualidad. Cuauhtémoc, Chihuahua. México; 2 Julio
- Mendoza-Mendoza, A., Zaid, R., Lawry, R., Hermosa, R., Monte, E., Horwitz, B.A., Mukherjee, P.K., 2018. Molecular dialogues between *Trichoderma* and roots: role of the fungal secretome. *Fungal Biology Reviews*, 32(2), pp. 62-85. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.12.001>
- Michel-Aceves, A.C., Hernández-Morales, J., Toledo-Aguilar, R., López, J.E., S., Romero-Rosales, T., 2019. Capacidad antagonica de *Trichoderma* spp. nativa contra *Phytophthora* parasitica y *Fusarium oxysporum* aislados de cultivos de Jamaica. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 42(3), pp. 235-241. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802019000300235&lng=es&nrm=iso
- Michel-Aceves, A.C., Otero-Sánchez, M.A., Rebolledo-Domínguez, O., Lezama-Gutiérrez, R., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A., 2005. Producción y efecto antagonico de quitinasas y glucanasas por *Trichoderma* spp., en la inhibición de *Fusarium subglutinans* y *Fusarium oxysporum* in vitro. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 11, pp. 273–278. <https://www.redalyc.org/pdf/609/60911213.pdf>
- Mijailova, P., Straka, F., Apostolov, A., 1982. Prognosis y señalización en la Sanidad Vegetal. Zemizdat, Sofia. 342.
- Morales-Mora, L.A., Andrade-Hoyos, P., Valencia-de Ita, M.A., Romero-Arenas, O., Silva-Rojas, H.V., Contreras- Paredes, C.A., 2020. Characterization of strawberry associated fungi and in vitro antagonistic effect of *Trichoderma harzianum*. *Mexican J. of Phytopathol*, 38(3): 1-16.
- Nykiel-Szymańska, J., Bernat, P., Slaba, M., 2020. Biotransformation and detoxification of chloroacetanilide herbicides by *Trichoderma* spp. with plant growth promoting activities.

- Pesticide Biochemistry and Physiology*, 163, 216-226.
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.11.018>
- Parmar, H.J., Bodar, N.P., Lakhani, H.N., Patel, S.V., Umrana, V.V., Hassan, M.M., 2015. Production of lytic enzymes by *Trichoderma* strains during *in vitro* antagonism with *Sclerotium rolfsii*, the causal agent of stem rot of groundnut. *African Journal of Microbiology Research*, 9, pp. 365-372.
<https://doi.org/10.5897/AJMR2014.7330>
- Pérez-Consuegra, N., 2004. Manejo ecológico de plagas. La Habana: Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural (CEDAR), Universidad Agraria de La Habana.
<https://www.uv.mx/hab/files/2022/06/Manejo-ecologico-de-plagas.pdf>
- Petrisor, C., Paica, A., Constantinescu, F., 2016. Temperature and pH influence on antagonistic potential of *Trichoderma* sp. strains against *Rhizoctonia solani*. Scientific paper, Series B, *Horticulture*, 60, pp. 275-278.
- Ramírez-Delgado, E., Luna-Ruíz, O., Moreno-Rico, J.D., Quiroz-Velásquez, J.L., Hernández-Mendoza, J., 2018. Effect of *Trichoderma* on growth and sporangia production of *Phytophthora capsici*. *Journal of Agricultural Science*, 10, pp. 8- 15.
<https://doi.org/10.5539/jas.v10n6p8>
- Reyes Y. 2011. Aislamientos de *Trichoderma* spp. promisorios para el control biológico del tizón de la vaina (*Rhizoctonia solani* Kühn) en arroz. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Agraria de La Habana, La Habana, Cuba.
- Rodríguez-García, D., Vargas-Rojas, J., 2022. Efecto de la inoculación con *Trichoderma* sobre el crecimiento vegetativo del tomate (*Solanum lycopersicum*). *Agronomía Costarricense*, 46(2): 47-60.
<http://dx.doi.org/10.15517/rac.v46i2.52045>
- Rojan, J., Tyagy, D., Prévost, D., Satinder, B., Pouleur, S., Surampalli, Y., 2010. Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. adzuki and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. *Crop Protection*, 29: 1452-1459.
- Samaniego, J.A., Ulloa, M., Herrera-Suárez, T., 1989. Hongos del suelo antagonistas de *Phymatotrichum omnivorum*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, pp. 86 – 95.
<https://biblat.unam.mx/es/revista/revista-mexicana-de-fitopatologia/articulo/hongos-del-suelo-antagonicos-de-phymatotrichum-omnivorum>
- Santos Díaz, A.M., Cotes Prado, A.M., Caro Quintero, A., Bustillo Pardey, A. E., Escobar, A., Balbin, A., Martínez, Y.A., 2018. Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros: agentes de control biológico. V. 1. Retrieved from
<https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/33829#.XEeF6XBmK-I.mendeley>.
- Simmons, E.G., 2007. *Alternaria*: An identification manual. Utrecht, Netherlands: CBS Fungal Biodiversity Centre. 1-775. 108.
- Suárez, C., Fernández, R., Valero, N., Gámez, R., Páez, A., 2008. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10(2), pp. 35-43.
<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote>
- Vicente, I., Baroncelli, R., Hermosa, R., Monte, E., Vannacci, G., Sarrocco, S., 2022. Role and genetic basis of specialized secondary metabolites in *Trichoderma* ecophysiology. *Fungal Biology Reviews*. 39, pp. 83-99.
<https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.12.004>
- Zeilinger, S., Atanasova, L., 2020. Chapter 2 - Sensing and regulation of mycoparasitism-relevant processes in *Trichoderma*. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, pp. 39-55.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819453-9.00002-7>.