

Morphological characterization and biocontrol potential of *Trichoderma* species isolated from semi-arid soils

Caracterización morfológica y potencial de biocontrol de especies de *Trichoderma* aisladas de suelos del semiárido

Jonathan Savín-Molina, ¹Departamento Académico de Agronomía, Universidad Autónoma de Baja California Sur. Carretera al sur km 5.5. Colonia El Mezquitito, CP 23080, La Paz, Baja California Sur, México; **Luis Guillermo Hernández-Montiel**, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Avenida Instituto Politécnico Nacional 195. Colonia Playa Palo de Santa Rita Sur, CP 23096, La Paz, Baja California Sur, México; **Wilson Ceiro-Catasú**, Ministerio de Educación Superior, Universidad de Granma. Carretera a Manzanillo km 17 Peralejo, CP 85149, Granma, Cuba; **Graciela Dolores Ávila-Quezada**, Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua. Escorza 900, Colonia Centro, CP 31000, Chihuahua, Chihuahua, México; ¹**Alejandro Palacios-Espinosa**, ¹**Francisco Higinio Ruiz-Espinoza**, ¹**Mirella Romero-Bastidas***

*Autor para correspondencia: miromero@uabcs.mx

Recibido: 29 de Junio, 2021.

Aceptado: 15 de Agosto, 2021.

Savín-Molina J, Hernández-Montiel LG, Ceiro-Catasú W, Ávila-Quezada GD, Palacios-Espinosa A, Ruiz-Espinoza FH and Romero-Bastidas M. 2021. Morphological characterization and biocontrol potential of *Trichoderma* species isolated from semi-arid soils. Mexican Journal of Phytopathology 39(3): 435-451.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2106-7>

Primera publicación DOI: 26 de Agosto, 2021.

First DOI publication: August 26, 2021.

Resumen. Se aislaron, identificaron y caracterizaron especies de *Trichoderma* spp. asociadas a plantas de *Pachycereus pringlei* y *Jatropha cinerea* como agentes de biocontrol hacia hongos fitopatógenos. Los agentes antagonísticos se aislaron de seis sitios en Baja California Sur, México. La identificación se realizó en base a sus características

Abstract. Species of *Trichoderma* spp. were isolated, identified and characterized associated with *Pachycereus pringlei* and *Jatropha cinerea* as biocontrol agents against phytopathogenic fungi. The antagonistic agents were isolated from six sites in Baja California Sur, Mexico. The identification was made based on its morphological characteristics and abundance, frequency of occurrence and mycelial growth of *Trichoderma* spp. and *in vitro* antagonism against *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*, *C. gloeosporioides* and *A. alternata* was determined. Eighteen *Trichoderma* isolates concentrated in seven species were obtained: *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride*, *T. longibrachiatum* and *Trichoderma* spp. Duncan's test ($p < 0.05$) showed significant differences in the abundance of the species (CFU/g of soil) and the frequency of occurrence. The largest population was found in El Saltito, Los Encinos and

morfológicas y se determinó; abundancia, frecuencia de ocurrencia y antagonismo *in vitro* hacia *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*, *C. gloeosporioides* y *A. alternata*. Se obtuvieron 18 aislamientos de *Trichoderma* concentrados en siete especies: *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride*, *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* sp. La prueba de Duncan ($p < 0.05$) mostró diferencias significativas en la abundancia de las especies (UFC/g de suelo) y la frecuencia de ocurrencia. La mayor población se encontró en El Saltito, Los Encinos y Las Pocitas con UFC de 2.1, 1.8 y $0.7 \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ de suelo respectivamente. En el antagonismo *in vitro*, *T. koningii* inhibió significativamente el crecimiento de los hongos fitopatógenos comparado con el control comercial. La actividad antifúngica de las diversas especies de *Trichoderma* spp. pueden ser una alternativa para el biocontrol de enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos de las especies analizadas.

Palabras clave: Hongo, suelo, diversidad, población, fitopatógenos, control biológico.

Trichoderma (Ascomycota: Hypocreales) es un hongo cosmopolita que incluye a más de 100 especies presentes en diferentes zonas climáticas y se encuentra colonizando a una amplia gama de nichos, incluidas plantas vivas y muertas, suelo, sedimento, materia orgánica, tejido animal, entre otros (Wang y Zhuang, 2020; Nuangmek *et al.*, 2021). *Trichoderma* spp. poseen un metabolismo versátil que les da capacidad de controlar a diversos fitopatógenos debido principalmente a la producción de enzimas hidrolíticas, competencia por espacio y nutrientes, inducción de resistencia en el hospedero, antibiosis, micoparasitismo, entre otros (Gamarra *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2020). Existe un progreso significativo sobre los mecanismos reguladores que utilizan las distintas especies

Las Pocitas with CFU of 2.1, 1.8 and $0.7 \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ of soil respectively. In the *in vitro* antagonism, *T. koningii* was the one that significantly inhibited the growth of phytopathogenic fungi. The antifungal activity of the various of *Trichoderma* spp. can be an alternative for the biocontrol of diseases caused by phytopathogenic fungi.

Key words: Fungus, soil, diversity, population, phytopathogens, biological control.

Trichoderma (Ascomycota: Hypocreales) is a cosmopolitan fungus that includes over 100 species found in different climatic zones and colonizes a wide range of niches, including living and dead plants, soil, sediment, organic matter, animal tissue, and others (Wang and Zhuang, 2020; Nuangmek *et al.*, 2021). *Trichoderma* spp. has a versatile metabolism that gives it the ability to control diverse phytopathogens, due mainly to the production of hydrolytic enzymes, competition for space and nutrients, resistance induction in the host, antibiosis, mycoparasitism, among others (Gamarra *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2020). There has been significant progress on the regulating mechanisms used by different species to establish themselves in terrestrial or marine habitats (Gal-Hemed *et al.*, 2011; Su *et al.*, 2018). One of the differences is reportedly the more efficient production of secondary metabolites (6-pentyl- α -pyrone and trichodermaketones), along with a greater production of enzymes (chitinase and β -1,3-endoglucanase) (Kim *et al.*, 2020). Some of the most important *Trichoderma* species acting as biocontrol agents against phytopathogens are *T. reesei*, *T. koningii*, *T. asperellum*, *T. viride*, *T. harzianum*, *T. aureoviride*, and others (Brito *et al.*, 2020; Alfiky and Weisskopf, 2021).

This genus is used to develop commercial bioproducts for the control of plant diseases (Singh

para establecerse en hábitats terrestres o marinos (Gal-Hemed *et al.*, 2011; Su *et al.*, 2018). Se ha reportado que unas de las diferencias consisten en la producción más eficiente de metabolitos secundarios (6-pentil- α -pirona y trichodermacetonas). Así como mayor producción de enzimas (quitinasa y β -1,3-endoglucanasa) (Kim *et al.*, 2020). Dentro de las especies de *Trichoderma* más importantes como agentes de biocontrol hacia fitopatógenos se encuentran: *T. reesei*, *T. koningii*, *T. asperellum*, *T. viride*, *T. harzianum*, *T. aureoviride*, entre otros (Brito *et al.*, 2020; Alfiky y Weisskopf, 2021).

Este género es utilizado para desarrollar bioproductos comerciales para el control de enfermedades en las plantas (Singh y Jadon, 2019; Carrillo *et al.*, 2020); sin embargo, existen casos de baja eficiencia en el control de fitopatógenos, debido a que las diversas especies de *Trichoderma* que componen los bioproductos comerciales son originarios de regiones edafoclimáticas diferentes a la zona geográfica donde se aplica (Harman *et al.*, 2010). Por lo tanto, es importante la selección de microorganismos nativos adaptados a las condiciones edafoclimáticas de la región donde se pretende realizar el biocontrol de las enfermedades en plantas (Al-Mekhlafi *et al.*, 2019; Tegene *et al.*, 2021). Alrededor del mundo, se desarrollan actividades agrícolas bajo climas desérticos con limitadas precipitaciones durante el año y temperaturas extremas con más de 40 °C. Los suelos en las zonas semiáridas son comúnmente alcalinos con pobre materia orgánica (Yang *et al.*, 2019; Elnashar *et al.*, 2021), por lo tanto, las plantas agrícolas que crecen sobre estas condiciones necesitan de la aplicación de bioproductos que permitan lograr una mayor productividad y calidad de la cosecha, de tal manera que el estudio de *Trichoderma* spp. nativos de zonas desérticas son un importante recurso para la sostenibilidad de los cultivos agrícolas (Torres-De la Cruz *et al.*, 2015; Michaud, 2018). En México, existen escasos estudios

and Jadon, 2019; Carrillo *et al.*, 2020). However, there are cases of low efficiency in the control of phytopathogens, since the diverse species of *Trichoderma* that make up the commercial bioproducts are originally from different edaphoclimatic regions to the geographic area in which it is applied (Harman *et al.*, 2010). It is therefore important to select native microorganisms adapted to the edaphoclimatic conditions of the place in which the biocontrol of plant diseases is intended to be carried out (Al-Mekhlafi *et al.*, 2019; Tegene *et al.*, 2021). Worldwide, agricultural activities are carried in deserts with limited yearly rainfall and extreme temperatures of over 40 °C. Soils in semiarid areas are commonly alkaline with poor organic matter (Yang *et al.*, 2019; Elnashar *et al.*, 2021), therefore, crops that grow under these conditions require bioproducts that help achieve a greater productivity and quality of the harvest, hence the study of *Trichoderma* spp. native to desert areas are an important resource for the sustainability of agricultural crops (Torres-De la Cruz *et al.*, 2015; Michaud, 2018). In Mexico there are scarcely any studies related to obtaining native *Trichoderma* isolations in desert areas. Due to this, the aim of the present study was to isolate, identify and characterize *Trichoderma* species as biocontrollers of semiarid areas against phytopathogenic fungi.

MATERIALS AND METHODS

Sampling and study site. During the year 2019-2020, strains of *Trichoderma* spp. were isolated in Baja California Sur, Mexico. In the area of study, the predominant climate is semiarid with a maximum temperature of 44 °C and a minimum of 16 °C with rainfalls of 122.5 mm/year. The predominant vegetation is the xerophilous scrub. Samples were taken from six places (Figure 1): Las

relacionados a la obtención de aislados nativos de *Trichoderma* asociado a suelos de zonas desérticas. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue el aislamiento, identificación y caracterización de especies de *Trichoderma* como biocontroladores de zonas semiáridas hacia hongos fitopatógenos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio y muestro. Durante el año 2019-2020, cepas de *Trichoderma* spp. fueron aisladas en Baja California Sur, México. En la zona de estudio predomina el clima semiárido con temperatura máxima de 44 °C y mínima de 16 °C, con precipitaciones de 122.5 mm/año. El tipo de vegetación predominante es el matorral xerófilo. Los muestreos se realizaron en seis sitios (Figura 1). Las Pocitas (24° 24' 30.13N-111° 5' 53.55"O y 57 msnm), El Cajete (24° 12' 56.95"N-110° 35' 17.21"O y 17 msnm), El Saltito (24° 14' 8.03"N-110° 12' 10.36"O y 55 msnm), Los Encinos (24° 0' 9.02"N-110° 9' 29.95"O y 530 msnm), El Triunfo (23° 47' 39.2"N-110° 7' 6.56"O y 516 msnm) y Los Barriles (23° 42' 7.72"N-109° 44' 39.69"O y 170 msnm). En cada sitio, se colectaron 10 muestras de suelo de 2 kg a una profundidad de 30 cm de la rizósfera de *Pachycereus pringlei* y *Jatropha cinerea* (especies representativas del matorral xerófilo) (Siddiquee, 2017). Las muestras fueron almacenadas en bolsas estériles a 20 °C.

Aislamiento e identificación. El aislamiento de *Trichoderma* spp. se realizó en el laboratorio de Fitopatología del área de agronomía en la Universidad Autónoma de Baja California Sur, México. El procedimiento fue mediante el método propuesto por Karthikeyan *et al.* (2008). De cada muestra homogenizada de suelo se colectó una submuestra de 50 g y se agregó a un matraz con 450 mL de

Pocitas (24° 24' 30.13N-111° 5' 53.55" W and 57 masl), El Cajete (24° 12' 56.95"N-110° 35' 17.21" W and 17 masl), El Saltito (24° 14' 8.03" N-110° 12' 10.36" W and 55 masl), Los Encinos (24° 0' 9.02" N-110° 9' 29.95" W and 530 masl), El Triunfo (23° 47' 39.2" N-110° 7' 6.56" W and 516 masl) and Los Barriles (23° 42' 7.72" N-109° 44' 39.69" W and 170 masl). In each site, 10 soil samples were collected, each weighing 2 kg, at a depth of 30 cm of the *Pachycereus pringlei* and *Jatropha cinerea* rhizosphere (representative species of the xerophilous scrub) (Siddiquee, 2017). The samples were stored in sterile bags at 20 °C.

Isolation and identification. The isolation of *Trichoderma* spp. was performed in the Phytopathology Laboratory of the Autonomous University of Baja California Sur, Mexico. The procedure was carried out using the method proposed by Karthikeyan *et al.* (2008). From each homogenized soil sample, a 50 g subsample was taken and placed in a beaker with 450 mL of sterile distilled water and stirred for 20 min. One milliliter of the mixture was taken to carry out a series of dilutions until 10⁻³, 10⁻⁴ and 10⁻⁵ were obtained. Out of each dilution, a 200 µL aliquot was uniformly striated in Petri dishes with Potato-Dextrose-Agar (PDA, Bioxon) and incubated at 28 °C for seven days. After five days of incubation, the culture forming units (CFU), which displayed a green color, were quantified. They were replanted in PDA until pure cultures were obtained. The *Trichoderma* spp. isolations were identified with the taxonomic keys proposed by Rifai (1969), Barnett and Hunter (1972) and Bissett *et al.* (2015). The macroscopic morphological characteristics observed were the color of mycelia, the texture of mycelia and the formation of concentric rings. The microscopic characteristics determined under a compound microscope (Labomed LX 400) were

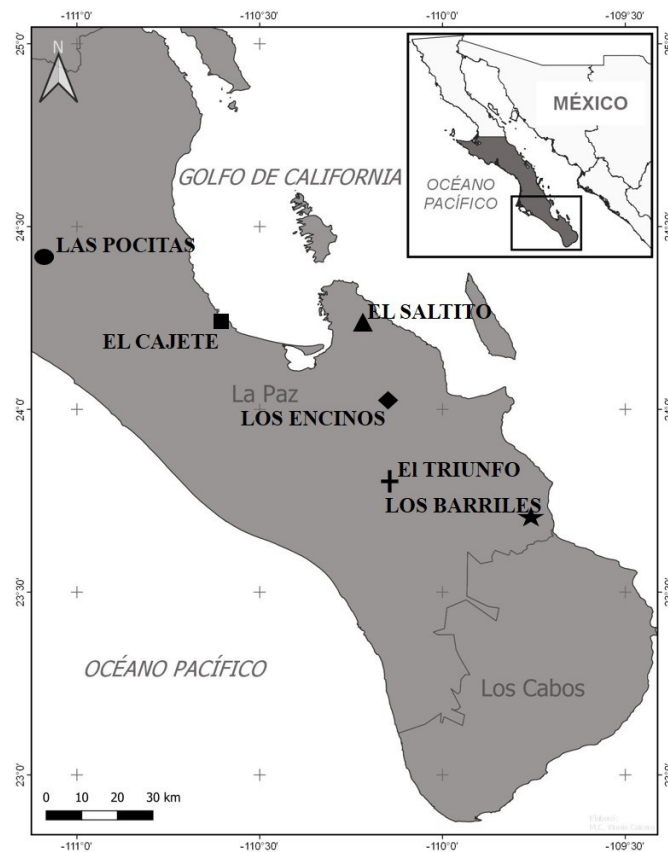


Figura 1. Sitios de estudio para el muestreo de suelo y el aislamiento de especies de *Trichoderma* en Baja California Sur, México.

Figure 1. Study sites for soil sampling and isolation of *Trichoderma* species in Baja California Sur, Mexico.

agua destilada estéril y se agitó por 20 min. De 1 mL de la mezcla fue tomado para realizar diluciones seriadas hasta obtener 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} . De cada dilución, una alícuota de 200 μ L, se estirió uniformemente en cajas Petri con Papa-Dextrosa-Agar (PDA, Bioxon) y se incubaron a 28 °C por siete días. Después de cinco días de incubación se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC) que aparecieron de color verde. Se realizaron resiembras en PDA hasta la obtención de cultivos puros. Los aislamientos de *Trichoderma* spp. fueron identificados con las claves taxonómicas propuestas por Rifai (1969), Barnett y Hunter

the shape of conidia, phialides and the presence of chlamydospores.

***Trichoderma* abundance and frequency of occurrence.** The abundance and frequency of *Trichoderma* spp. were determined with the quantification of the cultures of each area of study using the formula proposed by Muniappan and Muthukumar (2014): Abundance = Number of CFUs from a fungus in the sample /total number of CFUs from all the fungi in each sample \times 100 and it was expressed in CFU g^{-1} . The frequency of occurrence (F) was calculated using the formula

(1972) y Bissett *et al.* (2015). Las características morfológicas macroscópicas observadas fueron: color de micelio, textura de micelio y formación de anillos concéntricos. Mientras que las características microscópicas determinadas bajo un microscopio compuesto (Labomed LX 400) fueron: forma de conidios, fiálides y presencia de clamidosporas.

Abundancia y frecuencia de ocurrencia de *Trichoderma*. La abundancia y frecuencia de *Trichoderma* spp. se determinó con la cuantificación de las colonias de cada área de estudio mediante la fórmula propuesta por Muniappan y Muthukumar (2014): Abundancia = Número de UFC de un hongo en la muestra/Número total de UFC de todos los hongos en cada muestra $\times 100$ y se expresó en UFC g⁻¹. La frecuencia de ocurrencia (F) se calculó siguiendo la fórmula $F (\%) = \# \text{ agroecosistemas con una especie de hongo} / \# \text{ agroecosistemas examinados} \times 100$. Estos experimentos se realizaron con cinco repeticiones y evaluados dos veces en el tiempo.

Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs. hongos fitopatógenos. Se evaluó *in vitro* la actividad antagonista por el método de cultivo dual de los aislamientos de *Trichoderma* que presentaron la mayor velocidad de crecimiento micelial hacia cinco hongos fitopatógenos (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria alternata*) obtenidos del cepario del Laboratorio de fitopatología. Su patogenicidad fue evaluada previamente en estudios anteriores (Camacho-Aguiñiga, 2016; Núñez-Madera *et al.*, 2016; Rodríguez-Macías, 2016). Los microorganismos fueron cultivados en cajas Petri con PDA por siete días a 28 °C. Posteriormente, de los cultivos se tomó un disco de 5 mm de diámetro de cada *Trichoderma* y fitopatógeno y se depositaron ambos en los extremos de la caja a 6 cm de distancia entre sí. Las cajas Petri se incubaron

$F (\%) = \# \text{ agroecosistemas with a species of fungus} / \# \text{ agroecosistemas examined} \times 100$. These experiments were carried out with five repetitions and evaluated twice.

Antagonism of *Trichoderma* spp. vs. phytopathogenic fungi. The antagonistic activity was evaluated *in vitro* using the dual culture method of the *Trichoderma* isolations that presented the greatest speed of mycelial growth towards five phytopathogenic fungi (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Alternaria alternata*) obtained from the ceparium of the Phytopathology Laboratory. Its pathogenicity was evaluated in earlier studies (Camacho-Aguiñiga, 2016; Núñez-Madera *et al.*, 2016; Rodríguez-Macías, 2016). The microorganisms were cultivated in Petri dishes with PDA for seven days at 28 °C. Later, a disk, 5 mm in diameter, was taken from each *Trichoderma* and phytopathogen and they were both placed on the edges of the dish, 6 cm away from each other. The Petri dishes were incubated at 28 °C for five days and the mycelial growth of the pathogen was measured in cm, in relation to the *Trichoderma*. A group of Petri dishes were planted with a *Trichoderma* from the commercial product Tricho-Sin® based on *T. harzianum* (commonly used in the organic agriculture of the region) along with the phytopathogens. As a control, Petri dishes were planted on one edge, only with each fungus. The percentage of inhibition (PI) was determined using the formula by Otadoh *et al.* (2011): $PI (\%) = R1 - R2 / R1 \times 100$, where R1 = mycelial growth of the fungus in the control dishes, and R2 = mycelial growth of the fungus in the presence of the antagonist. Ten repetitions were carried out per treatment and the experiment was performed twice.

Statistical analyses. The data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) using

a 28 °C por cinco días y se midió en cm el crecimiento micelial del fitopatógeno con relación al del *Trichoderma*. Un grupo de cajas Petri fueron sembradas con un *Trichoderma* proveniente del producto comercial Tricho-Sin® a base de *T. harzianum* (Usado comúnmente en la agricultura orgánica de la región) más los fitopatógenos. Como tratamiento control, cajas Petri fueron sembradas en un extremo solo con cada hongo. El porcentaje de inhibición (PI) se determinó siguiendo la fórmula de Otadoh *et al.* (2011): $PI (\%) = R1-R2/R1 \times 100$. Donde R1 = Crecimiento micelial del hongo en las cajas control y R2 = Crecimiento micelial del hongo en presencia del antagonista. Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento y el experimento fue repetido dos veces en el tiempo.

Análisis estadísticos. Los datos se analizaron mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) utilizando el software STATISTICA 10.0 (paquete de software StatSoft, Tulsa, OK) y se utilizó la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$) para la separación de medias. Antes del análisis de varianza, los porcentajes se transformaron en arcoseno-raíz cuadrada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación de aislados de *Trichoderma*. Se obtuvieron 18 aislamientos agrupados en siete especies: *T. harzianum*, *T. viride*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. longibrachiatum*, *T. koningii* y *Trichoderma* sp. (Cuadro 1). Conidios globosos a subglobosos fueron observados en *T. atroviride*, *T. viride*, *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* sp. Sin embargo, fue elipsoidal en *T. asperellum*, *T. harzianum* y *T. koningii*. Cinco especies (*T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. viride* y *Trichoderma* sp.) mostraron de dos a tres zonas concéntricas de conidiación, mientras que

the software STATISTICA 10.0 (StatSoft software package, Tulsa, OK) and Duncan's test ($p \leq 0.05$) was used for the separation of means. Before the analysis of variance, the percentages were converted to arcsine-square root.

RESULTS AND DISCUSSION

Isolation and identification of *Trichoderma* isolations. Eighteen isolations were obtained and grouped in seven species: *T. harzianum*, *T. viride*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. longibrachiatum*, *T. koningii* and *Trichoderma* sp. (Table 1). Globular to subglobular conidia were found in *T. atroviride*, *T. viride*, *T. longibrachiatum* and *Trichoderma* sp. However, ellipsoidal conidia were found in *T. asperellum*, *T. harzianum* and *T. koningii*. Five species (*T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. viride* and *Trichoderma* sp.) displayed two to three concentric areas of conidiation, whereas two species showed scattered conidiation in one ring (*T. koningii* and *T. asperellum*). Phialides displayed a globular shape in the center, except in *T. viride*, *T. koningii* and *T. asperellum*, which displayed a thin morphology. In most species, phialides tended to group into 2-3 whorls, except for *T. harzianum* and *T. longibrachiatum*, which presented a solitary arrangement. These characteristics coincide with those indicated in the taxonomic keys pointed out earlier. Although *Trichoderma* sp. displayed a colonial morphology, which is typical to the genus, and microscopic similarities, some characteristics varied, such as the shape of the conidia, their arrangement and the sporocarp.

The presence of these species may represent possible stress-resistant biotypes. Osorio-Concepción *et al.* (2013) mention that the variability of isolations in one place may be stimulated by stress

Cuadro 1. Características morfológicas de diferentes especies de *Trichoderma* aisladas de zona semiáridas del Noroeste de México.
Table 1. Morphological characteristics of different species of *Trichoderma* isolated from semiarid zone of the Northwest Mexico.

Especie	Colonia	Micelio	No. anillos	Conidias	Fiálides
<i>T. atroviride</i>	Verde oscuro	Plano	2	Globosa	Agrupadas en 2-3 verticilos
<i>T. asperellum</i>	Verde oscuro	Plano	1	Elipsoidal	Agrupadas en 2-3 verticilos
<i>T. harzianum</i>	Verde oscuro	Algodonoso	2	Elipsoidal	Solitarias
<i>T. longibrachiatum</i>	Verde ligero	Algodonoso	2	Globosa	Solitarias
<i>T. viride</i>	Verde oscuro	Algodonoso	3	Globosa	Agrupadas en 2-3 verticilos
<i>T. koningii</i>	Verde ligero a azul verdozo	Algodonoso	1	Elipsoidal	Agrupadas en 2-3 verticilos
<i>Trichoderma</i> sp.	Verde ligero	Algodonoso	2	Sub-globosa	Agrupadas en 2-3 verticilos

dos especies registraron conidiación dispersa en un solo anillo (*T. koningii* y *T. asperellum*). Las fiálides presentaron forma globosa en el centro excepto en *T. viride*, *T. koningii* y *T. asperellum*, las cuales mostraron morfología delgada. En la mayoría de las especies las fiálides tendían a agruparse en 2-3 verticilos, excepto *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* que mostraron disposición solitaria. Estas características coinciden con las señaladas en las claves taxonómicas anteriormente mencionadas. En *Trichoderma* sp. aunque presentó morfología colonial típica del género y similitudes microscópicas, algunas características variaron como la forma de los conidios, su disposición y el cuerpo fructífero.

La presencia de estas especies pueden representar posibles biotipos resistentes a factores estresantes. Osorio-Concepción *et al.* (2013), mencionan que la variabilidad de aislados en un lugar, puede ser estimulada por factores de estrés como la luz, falta de nutrientes o cambios en pH. Al-Ani (2018) y Bononi *et al.* (2020), mencionan que el rápido crecimiento de *Trichoderma* spp. y su habilidad para crecer en diferentes sustratos, ha permitido su aislamiento en diversos suelos alrededor del mundo. Sin embargo, aunque este género ha sido estudiado en diversas zonas desérticas (Sharma *et al.*,

factors such as light, a lack of nutrients or changes in pH. Al-Ani (2018) and Bononi *et al.* (2020) mention that the rapid growth of *Trichoderma* spp. and its ability to grow in different substrates has allowed its isolation in diverse soils worldwide. However, although this genus has been studied in diverse barren areas (Sharma *et al.*, 2019; Ma *et al.*, 2020), this is the first report of its isolation from a semiarid area in Northwestern Mexico. The identification of *Trichoderma* species by their morphology continues to be an efficient method to identify this fungus (Wu *et al.*, 2017; Asis *et al.*, 2021). The species of *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum* and *T. viride* have already been reported as biocontrol agents for phytopathogens in diverse crops (Miguel-Ferrer *et al.*, 2021; Hewedy *et al.*, 2020; Naeimi *et al.*, 2020; Shamurailatpam and Kumar, 2020; Ayele *et al.*, 2021).

***Trichoderma* spp. abundance and frequency of occurrence.** The abundance of *Trichoderma* spp. was significantly different (Duncan, $p \leq 0.05$) between study sites (Figure 2). Las Pocitas presented the highest abundance of *Trichoderma* spp., whereas the lowest fungal population was

2019; Ma *et al.*, 2020) este es el primer reporte de su aislamiento de una zona semiárida del Noroeste de México. La identificación de especies de *Trichoderma* mediante morfología sigue siendo un método eficiente en la identificación de este hongo (Wu *et al.*, 2017; Asis *et al.*, 2021). Las especies de *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum* y *T. viride* ya han sido reportadas como agentes de biocontrol de fitopatógenos en diversos cultivos (Miguel-Ferrer *et al.*, 2021; Hewedy *et al.*, 2020; Naeimi *et al.*, 2020; Shamu-railatpam y Kumar, 2020; Ayele *et al.*, 2021).

Abundancia y frecuencia de ocurrencia de *Trichoderma* spp. La abundancia de *Trichoderma* spp. fue significativamente diferente (Duncan, $p \leq 0.05$) entre los sitios de estudio (Figura 2). Las Pocitas presentó la mayor abundancia de *Trichoderma* spp., mientras que la menor población del

quantified in El Cajete. Regarding the frequency of occurrence of the *Trichoderma* spp. isolations, differences were found between sites under study (Figure 3). In El Saltito, a higher number of *Trichoderma* spp. species (6) were found: *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. longibrachiatum*, *T. viride* and *Trichoderma* sp., and in Los Barriles, the lowest figure for occurrence was presented, with only three species: *T. koningii*, *T. atroviride* and *T. asperellum*.

In some geographical sites with greater rainfalls, there is availability of organic matter and host plants, and the abundance of *Trichoderma* is higher (Harman *et al.*, 2004; Garnica-Vergara *et al.*, 2016). In the semiarid areas in which high temperatures prevail almost all year round, a limiting factor is humidity, which affects plants negatively and indirectly reduces the diversity and abundance of microorganisms in the soil (Silva *et al.*, 2020), such

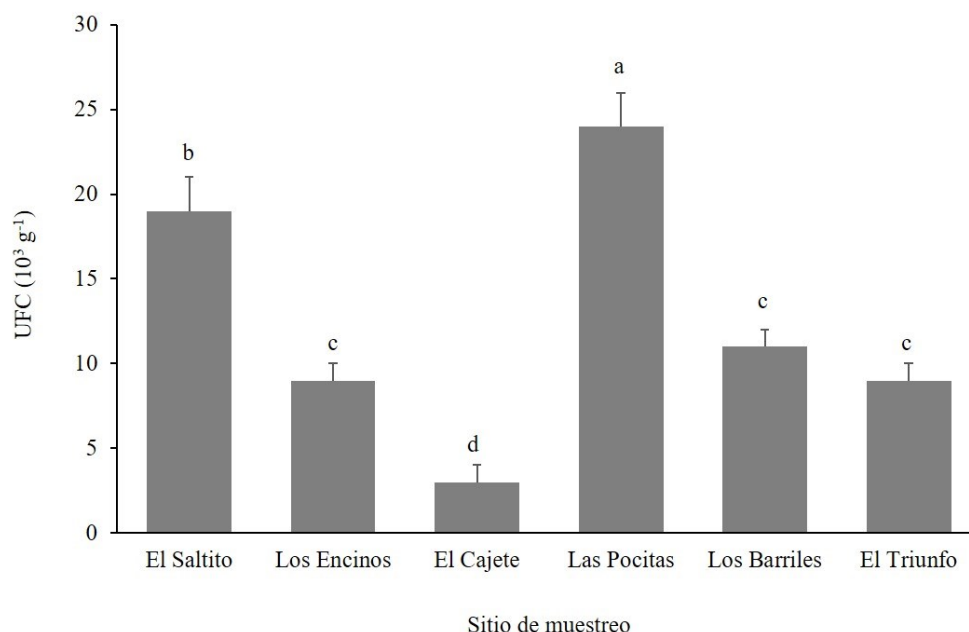


Figura 2. Abundancia de especies de *Trichoderma* aislados en diferentes sitios semiáridos del Noroeste de México. UFC = Unidades Formadoras de Colonias.

Figure 2. Abundance of *Trichoderma* species in different semiarid sites in the Northwest of Mexico. CFU = Colony Forming Units.

hongo fue cuantificada en El Cajete. En relación a la frecuencia de ocurrencia de los aislamientos de *Trichoderma* spp. se encontraron diferencias entre los sitios de estudio (Figura 3). En El Saltillo se presentó el mayor número de *Trichoderma* spp.: *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. longibrachiatum*, *T. viride* y *Trichoderma* sp. y en Los Barriles se presentó el nivel más bajo de ocurrencia con solo tres especies: *T. koningii*, *T. atroviride* y *T. asperellum*.

En algunos sitios geográficos donde la precipitación es alta, hay disponibilidad de materia

as bacteria, fungi, actinomycetes, related to plants of agronomic or forestry interest, among others (Long *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2021). Although *Trichoderma* spp. is one of the most abundant fungi in the soil, its occurrence is generally low in desert soils and is related to the scarce presence of plant species and to extreme edaphological conditions. In this regard, Gherbawy *et al.* (2004) identified only two species in soils of the Nile Valley: *T. harzianum* and the anamorphic *Hypocrea orientalis*, a member of the *T. longibrachiatum* genus. Montoya-González *et al.* (2016) point out

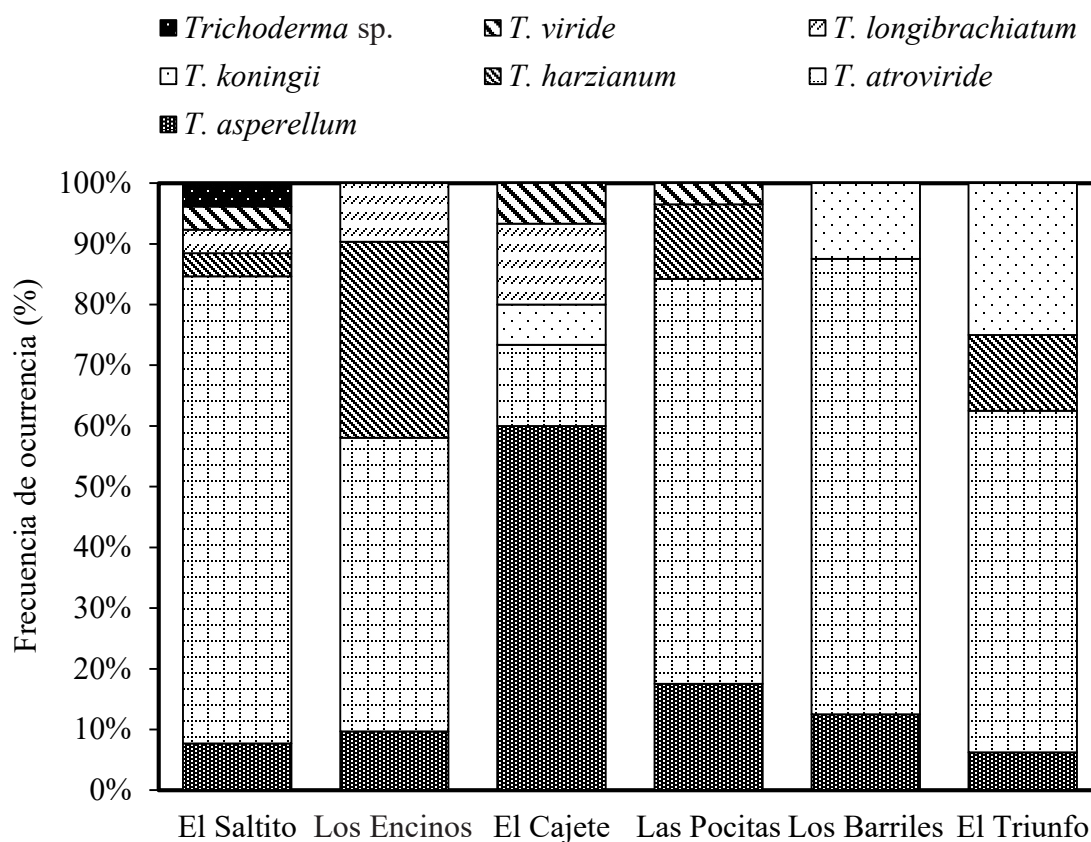


Figura 3. Frecuencia de ocurrencia de especies de *Trichoderma* en diferentes sitios semiáridos pertenecientes al municipio de La Paz, del Noroeste de México.

Figure 3. Frequency of occurrence of *Trichoderma* species in different semiarid sites belonging to the municipality of La Paz, in the Northwest of Mexico.

orgánica y plantas hospederas, la abundancia de *Trichoderma* es mayor (Harman *et al.*, 2004; Garnica-Vergara *et al.*, 2016). En las zonas semiáridas donde prevalecen las altas temperaturas durante casi todo el año, un factor limitante es la humedad, que afecta negativamente a las plantas e indirectamente disminuye la diversidad y abundancia de los microorganismos del suelo (Silva *et al.*, 2020), como bacterias, hongos, actinomicetos, asociados a plantas de interés agronómico, forestal, entre otras (Long *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2021). Aunque *Trichoderma* spp. es uno de los hongos más abundantes en el suelo, su ocurrencia generalmente es baja en suelos desérticos y está asociada a la escasa presencia de especies vegetales y a condiciones edafoclimáticas extremas, al respecto Gherbawy *et al.* (2004), identificó en suelos del Valle del Nilo solamente dos especies: *T. harzianum* y el anamorfo *Hypocrea orientalis*, miembro del género *T. longibrachiatum*. Montoya-González *et al.* (2016) señalan que el ambiente seco y la falta de materia orgánica reducen la presencia y diversidad de microorganismos del suelo. Estas características pueden estar relacionadas con la baja población que se presentó en el sitio de El Cajete, por la escasa vegetación y la textura arenosa del suelo, carente de materia orgánica. Aunque se destaca que el número de especies fue mayor al del sitio de Las Pocitas. Estas especies podrían poseer mayor capacidad de producción de compuestos para su adaptación a ambientes extremos.

Antagonismo *in vitro*. El porcentaje de inhibición (PI) de diversos hongos fitopatógenos fue significativamente diferente (Duncan, $p \leq 0.05$) entre las especies de *Trichoderma* (Cuadro 2). Esta respuesta puede ser debido a la capacidad diferencial de cada especie en la producción de compuestos, así como la velocidad de reacción ante los distintos factores. Al respecto, Hewedy *et al.* (2020), señalan que la

that the dry environment and the lack of organic matter reduce the presence and diversity of soil microorganisms. These characteristics may be related to the low population found in the site of El Cajete due to the scarce vegetation and the sandy texture of the soil, lacking in organic matter. However, it is worth mentioning that the number of species found was higher than in Las Pocitas. These species may have a greater ability to produce compounds to adapt to extreme environments.

Antagonism *in vitro*. The percentage of inhibition (PI) of diverse phytopathogenic fungi was significantly different (Duncan, $p \leq 0.05$) between species of *Trichoderma* (Table 2). This response may be due to the different ability of each species in the production of compounds, as well as the speed of reaction when faced with different factors. Regarding this, Hewedy *et al.* (2020) point out that the difference in the inhibition of pathogens between *Trichoderma* spp. isolations is mostly due to its ability to adapt and grow under different substrates and to its antagonistic ability, mediated by its versatility to exert diverse antagonistic mechanisms. Due to this, its plasticity helps it survive in soils with extreme climates, such as in Northern Mexico. *T. koningii* inhibited all the phytopathogenic fungi (*F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*, *A. alternata* and *C. gloeosporioides*), surpassing the antagonism exerted by the rest of the microorganisms, including the commercial product Tricho-Sin®. *T. harzianum* caused the least inhibition in phytopathogens (Figure 4). These results coincide with a report by Elshahawy *et al.* (2017), who proved the effectiveness of *T. koningii* in comparison with *T. album*, *T. harzianum*, *T. viride* and *T. virens* in the control of *Sclerotium cepivorum*. Meanwhile, Katyayani *et al.* (2020) evaluated the inhibiting effect of *T. harzianum*, *T. viride* and *T. koningii* on *Fusarium oxysporum*

Cuadro 2. Efecto de *Trichoderma* spp. sobre la inhibición de hongos asociados a enfermedades bajo condiciones *in vitro*.
Table 2. Effect of *Trichoderma* spp. on the inhibition of phytopathogenic fungi related to diseases under *in vitro* conditions.

Especie	Porcentaje de Inhibición (%) ^y				
	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
<i>T. asperellum</i>	70 b ^z	64 c	56 b	69 b	63 b
<i>T. harzianum</i>	60 d	63 c	40 d	56 d	50 d
<i>T. koningii</i>	75 a	73 a	62 a	73 a	69 a
<i>T. longibrachiatum</i>	69 b	68 b	56 b	61 c	62 b
<i>T. atroviride</i>	63 c	68 b	55 b	68 b	62 b
<i>Trichoderma</i> sp.	63 c	64 c	50 c	68 b	63 b
<i>T. viride</i>	64 c	64 c	51 c	69 b	62 b
Tricho-Si ⁿ [®]	64 c	54 d	57 b	69 b	56 c

^yPI = Porcentaje de inhibición. / ^yPI = Percentage of inhibition

^zLetras diferentes significa diferencia significativa entre tratamientos de acuerdo con la prueba de Duncan $p \leq 0.05$. / ^zDifferent letters represent significant differences between treatments according to Duncan's test $p \leq 0.05$.

diferencia en la inhibición de los fitopatógenos entre los aislamientos de *Trichoderma* spp. se debe principalmente a su habilidad para adaptarse y crecer bajo diversos sustratos y a su capacidad antagonista mediada por su versatilidad para ejercer diversos mecanismos antagonistas. Por lo anterior, su plasticidad le permite sobrevivir en suelos de climas extremos como del norte de México. *T. koningii* inhibió a todos los hongos fitopatógenos (*F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*, *A. alternata* y *C. gloeosporioides*) superando al antagonismo ejercido por el resto de los microorganismos incluido al producto comercial Tricho-Sin[®]. *T. harzianum* fue el que causó la menor inhibición en los fitopatógenos (Figura 4). Estos resultados coinciden con lo reportado por Elshahawy *et al.* (2017) quienes comprobaron la efectividad de *T. koningii* comparada con *T. album*, *T. harzianum*, *T. viride* y *T. virens* en el control de *Sclerotium cepivorum*. Mientras que Katyayani *et al.* (2020) evaluó el efecto inhibidor de *T. harzianum*, *T. viride* y *T. koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* determinando a *T. koningii* el de mayor eficiencia de inhibición en el crecimiento micelial del patógeno. Esta efectividad

f. sp. *ciceri* and determined *T. koningii* to be the most efficient in inhibiting the mycelial growth of the pathogen. This effectiveness of *T. koningii* may be due to higher efficient mechanisms, not only for the control of pathogens, but also in the tolerance to different types of stress. Regarding this, Nykiel-Szymańska *et al.* (2018) reported that *T. koningii* specifically produces dechlorinated and hydroxyl-type metabolites that provide a higher tolerance to copper, and which may be related to its different action mechanisms.

Cheng *et al.* (2012) reported that the efficiency of most *Trichoderma* species (including *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum*, *T. atroviride* and *T. viride*) consists in inhibiting the growth of the hyphae of phytopathogenic fungi by causing cytosolic vacuolization and lysis in the hyphae, whereas Kashyap *et al.* (2020) associates it with the reduction in the sporulation of fungi. Other antagonistic mechanisms exerted by *Trichoderma* spp. in the *in vitro* and *in vivo* inhibition of the phytopathogens is the production of hydrolytic enzymes (chitinase and β -1,3-glucanase) that degrade the cell wall of the fungus (Ruangwong *et*

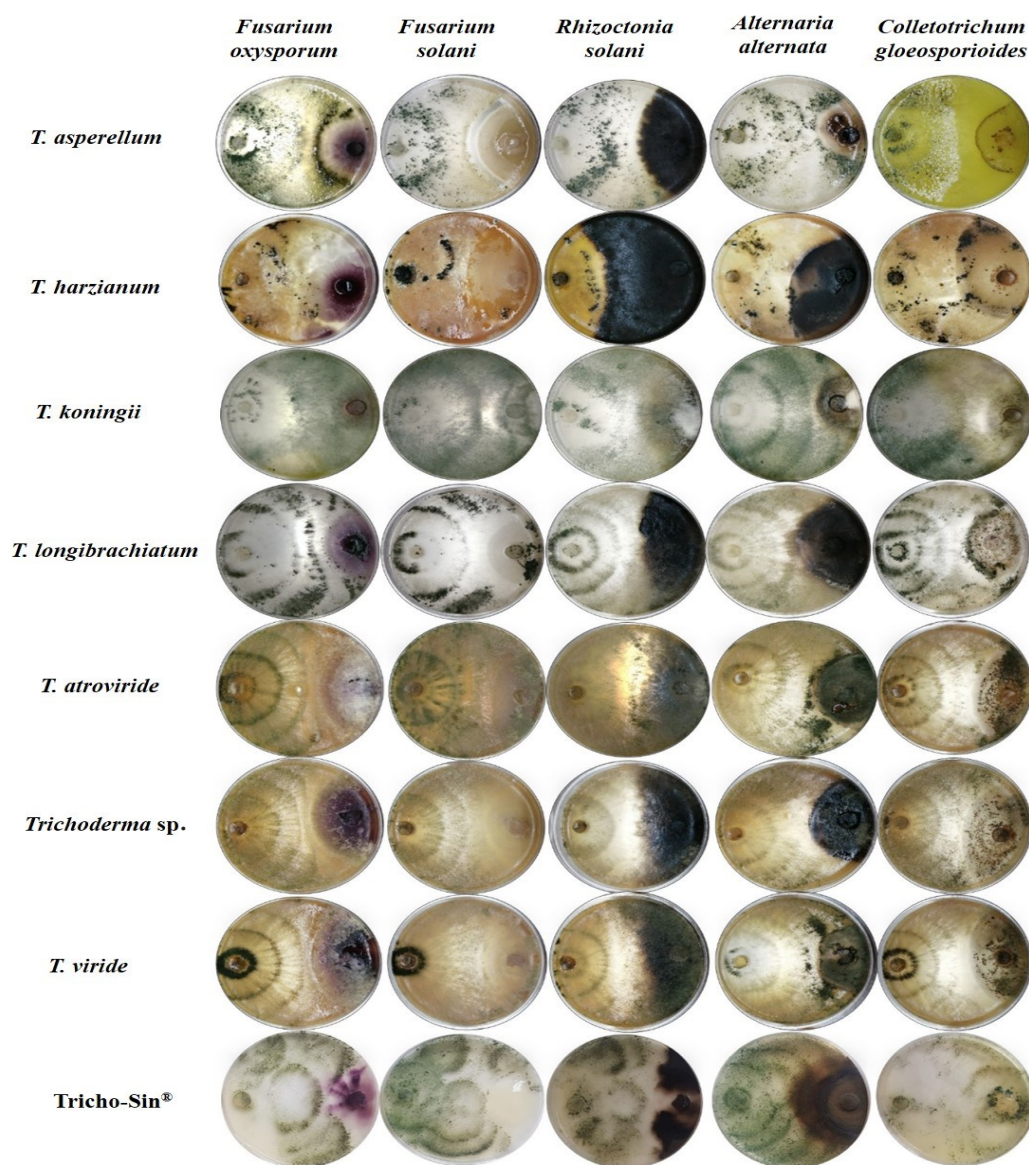


Figura 4. Antagonismo *in vitro* de especies de *Trichoderma* aisladas de zonas semiáridas contra hongos fitopatógenos.
Figure 4. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species isolated from semiarid areas against phytopathogenic fungi.

de *T. koningii* puede ser debido a mecanismos mayormente eficientes no solo en el control de patógenos, sino también en la tolerancia a diferentes tipos de estrés. Al respecto, Nykiel-Szymańska *et al.* (2018) reportaron que *T. koningii* produce específicamente metabolitos de tipo de clorados e hidroxilos

al., 2021), volatile organic compounds (azetidina, 2-feniletanol and etil hexadecanoato) with antimicrobial activity (Dini *et al.*, 2021), the production of antibiotics (Bae *et al.*, 2016), competition for space and nutrients such as sucrose and glucose (Liu *et al.*, 2021), induction of the

que le proporcionan una alta tolerancia al cobre y los cuales posiblemente pueden estar asociados a sus diferentes mecanismos de acción.

Cheng *et al.* (2012), reportaron que la eficacia de la mayoría de las especies de *Trichoderma* (incluidas *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum*, *T. atroviride* y *T. viride*) consiste en inhibir el crecimiento de las hifas de los hongos fitopatógenos al provocar vacuolización citosólica y lisis en las hifas, mientras que Kashyap *et al.* (2020), lo asocia a la reducción de la esporulación de los hongos. Otros mecanismos antagónicos que ejerce *Trichoderma* spp. en la inhibición *in vitro* e *in vivo* de los fitopatógenos es la producción de enzimas hidrolíticas (chitinasa y β -1,3-glucanasa) que degradan la pared celular del hongo (Ruangwong *et al.*, 2021), compuestos volátiles orgánicos (azetidina, 2-feniletanol y hexadecanoato de etilo) con actividad antimicrobiana (Dini *et al.*, 2021), producción de antibióticos (Bae *et al.*, 2016), competencia por espacio y nutrientes como la sacarosa y glucosa (Liu *et al.*, 2021), inducción de resistencia sistémica del hospedero (Li *et al.*, 2018), entre otros. Debido a que la supervivencia, el establecimiento y la actividad antagónica de especies de *Trichoderma* en campo son aún inconsistentes, es de vital importancia realizar estudios encaminados en comprender la ecología y la dinámica de las poblaciones de *Trichoderma* en el suelo para lograr una protección eficiente de los cultivos.

CONCLUSIONES

Siete especies de *Trichoderma* fueron identificadas: *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride*, *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* sp. Las Pocitas presentó mayor población y frecuencia de ocurrencia de *Trichoderma* spp., mientras que en El Saltito se observó mayor variabilidad de especies al identificar a *T. harzianum*,

systemic resistance of the host (Li *et al.*, 2018), and others. Due to the survival, the establishment and the antagonistic activities of *Trichoderma* species in the field are still inconsistent, it is crucial to carry out studies aimed at understanding the ecology and the dynamics of the *Trichoderma* populations in the soil to protect the crops in an efficient manner.

CONCLUSIONS

Seven *Trichoderma* species were identified: *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride*, *T. longibrachiatum* and *Trichoderma* sp. Las Pocitas presented the largest population and frequency of occurrence of *Trichoderma* spp., and in El Saltito, a greater variability of species was observed, since *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. longibrachiatum*, *T. viride* and *Trichoderma* sp. were identified. In the antagonism, *T. koningii* presented the best inhibition response in the growth of *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*, *A. alternata* and *C. gloeosporioides*, in comparison with the rest of the species and the *T. harzianum* commercial product Tricho-Sin[®]. A knowledge of the different species of *Trichoderma* present in the region will be essential for future studies related to the selection of native strains from semiarid areas that can be used in extreme environmental conditions against root pathogens in plants of agricultural interest.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

*T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. longibrachiatum*, *T. viride* y *Trichoderma* sp. En el antagonismo *T. koningii* presentó la mejor respuesta de inhibición en el crecimiento de *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*, *A. alternata* y *C. gloeosporioides*, comparado con

el resto de las especies y el producto comercial de *T. harzianum* Tricho-Sin®. El conocimiento de las diferentes especies de *Trichoderma* presentes en la región, será de gran relevancia para futuros estudios relacionados a la selección de cepas nativas de zonas semiáridas que puedan ser utilizadas en condiciones ambientales extremas contra patógenos de raíz en plantas de interés agrícola.

## LITERATURA CITADA

- Alfiky A, and Weisskopf L. 2021. Deciphering *Trichoderma*-plant-pathogen interactions for better development of biocontrol applications. *Journal of Fungi* 7(1): 61. <https://doi.org/10.3390/jof7010061>.
- Al-Mekhlafi NA, Abdullah QY, Al-Helali MF and Alghalibi SM. 2019. Antagonistic potential of native *Trichoderma* species against tomato fungal pathogens in Yemen. *International Journal of Molecular Microbiology* 2(1): 1-10. <https://psmpublishers.org/issues/antagonistic-potential-of-native-trichoderma-species-against-tomato-fungal-pathogens-in-yemen/>.
- Al-Ani LKT. 2018. *Trichoderma* from extreme environments: Physiology, diversity, and antagonistic activity. In *Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications* 8: 389-403. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-0329-6\\_14](https://doi.org/10.1007/978-981-13-0329-6_14).
- Asis A, Shahriar SA, Naher L, Saallah S, Fatimah HNN, Kumar V and Siddiquee S. 2021. Identification patterns of *Trichoderma* strains using morphological characteristics, phylogenetic analyses and lignocellulolytic activities. *Molecular Biology Reports* 48: 3285-3301. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06321-0>.
- Ayele TM, Gebremariam GD and Patharajan S. 2021. Isolation, identification and *in vitro* test for the biocontrol potential of *Trichoderma viride* on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *The Open Agriculture Journal* 15: 10-20. <https://doi.org/10.2174/1874331502115010010>.
- Bae SJ, Mohanta TK, Chung JY, Ryu M, Park G, Shim S, Hong S-B, Seo H, Bae D-W, Bae I, Kim J-J and Bae H. 2016. *Trichoderma* metabolites as biological control agents against *Phytophthora* pathogens. *Biological Control* 92: 128-138. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.10.005>
- Barnett H and Hunter B. 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. EE. UU. Burgess Publ. Co. 241p.
- Bissett JW, Gams W and Jaklitsch GJ. 2015. *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA Fungus* 6: 263-295. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2015.06.02.02>.
- Bononi L, Chiamonte JB, Pansa CC, Moitinho MA and Melo IS. 2020. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. *Scientific Reports* 10: 2858. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59793-8>.
- Brito RAS, Cavalcante GP, Stock VM, Colman AA, dos Santos DP, Sermarini RA and Maffia LA. 2020. *Trichoderma* species show biocontrol potential against *Ceratocystis* wilt in mango plants. *European Journal of Plant Pathology* 158(3): 781-788. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02095-6>.
- Camacho-Aguñiga DG, Hernández-Montiel LG, López-Aburto MG y Romero-Bastidas M. 2016. Identificación y caracterización del agente causal de la marchitez en esparago en Baja California Sur. Memoria de congreso. Suplemento de la Revista Mexicana de Fitopatología 34 (Suplemento): S49. <https://www.smf.org.mx/rmf/suplemento/Suplemento342016.html>
- Carrillo P, Woo SL, Comite E, El-Nakhel C, Rouphael Y, Fusco GM, Borzacchiello A, Lanzuise S and Vinale F. 2020. Application of *Trichoderma harzianum*, 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone and plant biopolymer formulations modulate plant metabolism and fruit quality of plum tomatoes. *Plants* 9(6): 771. <https://doi.org/10.3390/plants9060771>.
- Cheng CH, Yang CA and Peng KC. 2012. Antagonism of *Trichoderma harzianum* ETS 323 on *Botrytis cinerea* mycelium in culture conditions. *Phytopathology* 102(11): 1054-1063. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-11-0315>.
- Dini I, Marra R, Cavallo P, Pironti A, Sepe I, Troisi J, Scala G, Lombardi P and Vinale F. 2021. *Trichoderma* strains and metabolites selectively increase the production of volatile organic compounds (VOCs) in olive trees. *Metabolites* 11(4): 213. <https://doi.org/10.3390/metabo11040213>.
- Elnashar A, Abbas M, Sobhy H and Shahba M. 2021. Crop water requirements and suitability assessment in arid environments: A new approach. *Agronomy* 11(2): 260. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020260>.
- Elshahawy IE, Saied N, Abd-El-Kareem F and Morsy A. 2017. Biocontrol of onion white rot by application of *Trichoderma* species formulated on wheat bran powder. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, vol. 50(3-4): 150-166. <https://doi.org/10.1080/03235408.2016.1276423>.
- Gal-Hemed I, Atanasova L, Komon-Zelazowska M, Druzhinina I, S, Viterbo and Yarden O. 2011. Marine isolates of *Trichoderma* spp. as potential halotolerant agents of biological control for arid-zone agriculture. *Applied and Environmental Microbiology* 77 (15): 5100-5109. doi:10.1128/AEM.00541-11.
- Gamarrá MAF, Ojeda MM and Maldonado GAE. 2017. Identificación molecular y tasa de crecimiento de cepas nativas de *Trichoderma* spp. aisladas de la Región Norte del Paraguay. *Investigación Agraria* 19(2): 127-132. <https://doi.org/10.18004/investig.agrar.2017.diciembre.127-132>.
- Garnica-Vergara A, Barrera-Ortiz S, Muñoz-Parra E, Raya-González J, Méndez-Bravo A and Macías-Rodríguez L. 2016. The volatile 6-pentyl-2H-pyran-2-one from *Trichoderma atroviride* regulates *Arabidopsis thaliana* root morphogenesis via auxin signaling and ethylene insensitive 2 functioning. *New Phytologist* 209 (4): 1496-1512. <https://doi.org/10.1111/nph.13725>.
- Gherbawy Y, Druzhinina I, Shaban GM, Wuczkowsky M, Yasser M, El-naghy MA, Prillinger HJ, and Kubicek CP. 2004. *Trichoderma* populations from alkaline agricultural soil in the Nile valley, Egypt, consist of only two species. *Mycological Progress* 3(3): 211-218. <https://doi.org/10.1007/s11557-006-0091-y>.
- Harman GA, Howell CR, Viterbo A, Chet I and Lorito M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant

- symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2: 43-56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>.
- Harman G, Obregon M, Samuels G and Lorito M. 2010. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developed and developing world. *Plant Disease* 94: 928-939. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-8-0928>.
- Hewedy OA, Abdel LKS, Seleiman MF, Shami A, Albarakaty FM and M El-Meihy R. 2020. Phylogenetic diversity of *Trichoderma* strains and their antagonistic potential against soil-borne pathogens under stress conditions. *Biology* 9(8): 189. <https://doi.org/10.3390/biology9080189>.
- Katyayani KKS, Bindal S, Prakash Singh J, Rana M and Srivastava S. 2020. *In vitro* evaluation of *Trichoderma* spp. against chickpea wilt. *International Archive of Applied Sciences and Technology* 11(3): 1-4. <https://doi.org/10.15515/iaast.0976-4828.11.3.14>
- Karthikeyan BC, Jaleel A., Lakshmanan GA and Deiveekasundaram M. 2008. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 62 (1): 143-45. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.09.004>.
- Kashyap PL, Solanki MK, Kushwaha P, Kumar S and Srivastava AK. 2020. Biocontrol potential of salt-tolerant *Trichoderma* and *Hypocrea* isolates for the management of tomato root rot under saline environment. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 20(1): 160-176. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00114-y>.
- Kim K, Heo YM, Jang S, Lee H, Kwon SL, Park MS, Lim YW and Kim JJ. 2020. Diversity of *Trichoderma* spp. in marine environments and their biological potential for sustainable industrial applications. *Sustainability* 12, 4327: 1-12. <https://doi.org/10.3390/su12104327>.
- Li N, Alfiky A, Wang W, Islam M, Nourollahi K, Liu X and Kang S. 2018. Volatile compound-mediated recognition and inhibition between *Trichoderma* biocontrol agents and *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in Microbiology* 9: 2-16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02614>.
- Liu CM, Liu SY, Liao CK, Lo CT, Lin KC and Peng KC. 2021. Cabbage defense response provoked by *Trichoderma* Th-LAAO. *Archives of Microbiology* 203(4): 1641-1647. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02174-6>.
- Long Y, Yang X, Cao Y, Lv G, Li Y, Pan Y and Liu Y. 2021. Relationship between soil fungi and seedling density in the vicinity of adult conspecifics in an arid desert forest. *Forests* 12(1): 92. <https://doi.org/10.3390/f12010092>.
- Ma J, Tsegaye E, Li M, Wu B and Jiang X. 2020. Biodiversity of *Trichoderma* from grassland and forest ecosystems in Northern Xinjiang, China. *3 Biotech* 10(8): 1-13. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02301-6>.
- Michaud JP. 2018. Challenges to conservation biological control on the high plains: 150 years of evolutionary rescue. *Biological Control* 125: 65-73. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.07.001>.
- Miguel-Ferrer L, Romero-Arenas O, Andrade-Hoyos P, Sánchez-Morales P, Rivera-Tapia JA and Fernández-Pavía SP. 2021. Antifungal activity of *Trichoderma harzianum* and *T. koningiopsis* against *Fusarium solani* in seed germination and vigor of Miahuateco chili seedlings. *Mexican Journal of Phytopathology* 39(2): 228-247. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2101-5>
- Muniappan V, and Muthukumar TV. 2014. Influence of crop species and edaphic factors on the distribution and abundance of *Trichoderma* in Alfisol soils of southern India. *Acta Botánica Croatica* 73(1): 37-50. <https://doi.org/10.2478/botcro-2013-0004>.
- Montoya-González AH, Quijano-Vicente G, Morales-Maza A, Ortiz-Urbe N, Hernández-Martínez R. 2016. Isolation of *Trichoderma* spp. from desert soil, biocontrol potential evaluation and liquid culture production of conidia using agricultural fertilizers. *Journal of Fertilizers and Pesticides* 7: 163. <https://doi.org/10.4172/2471-2728.1000163>.
- Nacimi S, Khosravi V, Varga A, Vágvölgyi C and Kredics L. 2020. Screening of organic substrates for solid-state fermentation, viability and bioefficacy of *Trichoderma harzianum* AS12-2, a biocontrol strain against rice sheath blight disease. *Agronomy* 10(9): 1258. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091258>.
- Nykiel-Szymańska J, Bernat P and Ślaba M. 2018. Potential of *Trichoderma koningii* to eliminatealachlor in the presence of copper ions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 162(30):1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.060>.
- Nuangmek W, Aiduang W, Kumla J, Lumyong S and Suwanarach N. 2021. Evaluation of a newly identified endophytic fungus, *Trichoderma phayaense* for plant growth promotion and biological control of gummy stem blight and wilt of muskmelon. *Frontiers in Microbiology* 12: 410. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.634772>.
- Núñez-Madera CA, Hernández-Montiel LG, López-Aburto MG y Romero-Bastidas M. 2016. Identificación morfológica del agente causal de la marchitez en garbanzo (*Cicer arietinum*) en Baja California Sur. *Memoria de congreso. Revista Mexicana de Fitopatología* 34(suplemento): S49 <https://www.smf.org.mx/rmf/suplemento/Suplemento342016.html>
- Osorio-Concepción MFS, Casas PC, Cortés 2013. Efecto de la limitación de fosfato sobre la conidiación de *Trichoderma atroviride* y mutantes ciegas a la luz. *Revista Mexicana de Micología* 37: 41-40.
- Otadoh JA, Okoth SA, Ochanda J and Kahindi JP. 2011. Assessment of *Trichoderma* isolates for virulence efficacy on *Fusarium oxysporum* F. sp. *phaseoli*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 13(1): 99 – 107. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tsa/v13n1/v13n1a15.pdf>
- Rifai MA. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycology Papers* 116: 1-56. <https://doi.org/10.1139/b91-298>.
- Rodríguez-Macías KM, Hernández-Montiel LG, López-Aburto MG y Romero-Bastidas M, Chiquito-Contreras R. 2016. Aislamiento e identificación del agente causal de la mancha foliar en albahaca (*Ocimum basilicum*) en Baja California Sur, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34 (suplemento): S50. <https://www.smf.org.mx/rmf/suplemento/Suplemento342016.html>
- Ruangwong OU, Pornsuriya C, Pitija K and Sunpapao A. 2021. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma koningiopsis* PSU3-2 against postharvest anthracnose of chili pepper. *Journal of Fungi* 7(4): 276. <https://doi.org/10.3390/jof7040276>.



- Siddiquee S. 2017. Practical handbook of the biology and molecular diversity of *Trichoderma* species from tropical regions. Springer International Publishing. P. 17. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-64946-7>.
- Shamurailatpam D and Kumar A. 2020. Selected fungicides and biocontrol agents for managing early blight of tomato caused by *Alternaria solani*. Indian Journal of Plant Protection 48(4): 474-481.
- Silva JBT, Marques E, Menezes JE, Silva JP and Mello SCM. 2020. Population density of *Trichoderma* fungi in natural environments and agrosystems of a Cerrado area. Biota Neotropica 20(4): 1-9. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2020-1048>.
- Singh SK and Jadon KS. 2019. Biocontrol efficacy of *Trichoderma viride* against fungal pathogens of cumin, groundnut and castor. Indian Phytopathology 72(3): 537-543. <https://doi.org/10.1007/s42360-019-00156-3>.
- Sharma S, Kour D, Rana KL, Dhiman A, Thakur S, Thakur P, Thakur S, Thakur N, Sudheer S, Yadav N, Yadav AN, Rastegari AA and Singh K. 2019. *Trichoderma*: Biodiversity, ecological significances, and industrial applications. In: Yadav AN, Mishra S, Singh S and Gupta A (eds). Recent advancement in white biotechnology through fungi. Springer 85-120. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1_3).
- Su D, Ding L, He S. 2018. Marine-derived *Trichoderma* species as a promising source of bioactive secondary metabolites. Mini-Rev. Medicinal Chemistry 18(20):1702-1713. <https://doi.org/10.2174/1389557518666180727130826>
- Tegegne S, Dejene M, Terefe H, Tegegn G, Tena E and Ayalew A. 2021. Evaluation of native *Trichoderma* isolates for the management of sugarcane smut (*Ustilago scitaminea*) in sugar plantations of Ethiopia. Cogent Food and Agriculture 7(1): 1872853. <https://doi.org/10.1080/23311932.2021.1872853>.
- Torres-De la Cruz M, Ortiz-García CF, Bautista-Muñoz C, Ramírez-Pool JA, Ávalos-Contreras N and Cappello-García S. 2015. Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. Revista Mexicana de Biodiversidad 86: 947-961. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2015.07.012>.
- Wang C and Zhuang WY. 2020. Carbon metabolic profiling of *Trichoderma* strains provides insight into potential ecological niches. Mycologia 112(2): 213-223. <https://doi.org/10.1080/00275514.2019.1698246>.
- Wu Q, Sun R, Ni M, Yu J, Li Y, Yu C, Dou K, Ren J and Chen J. 2017. Identification of a novel fungus, *Trichoderma asperellum* GDFS1009, and comprehensive evaluation of its biocontrol efficacy. Plos One 12(6): e0179957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179957>.
- Yang H, Chen Y and Zhang F. 2019. Evaluation of comprehensive improvement for mild and moderate soil salinization in arid zone. Plos One 14(11): e0224790. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224790>.
- Yang X, Long Y, Sarkar B, Li Y, Lü G, Ali A and Cao YE. 2021. Influence of soil microorganisms and physicochemical properties on plant diversity in an arid desert of Western China. Journal of Forestry Research 1-15. [https://doi.org/10.1094/MPMI-03-20-0076-A](https://doi.org/10.1007/s11676-021-01292-Zhou Y, Wang Y, Chen K, Wu Y, Hu J, Wei Y, Li J, Yang H, Ryder M and Denton MD. 2020. Near-complete genomes of two <i>Trichoderma</i> species: A resource for biological control of plant pathogens. Molecular Plant Microbe Interactions 33(8): 1036-1039. <a href=).