



Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* contra *Sclerotium rolfsii* provenientes de papa (*Solanum tuberosum*)

Gabriel Herrera-Rodríguez¹, Gabriel Antonio Lugo-García^{1*}, María Belén Irazoqui-Acosta², Diana Laura Muñoz-Bojórquez, Sara Elodia Armenta-López², Rubén Félix-Gastélum³, Hugo Beltrán-Peña³, Guadalupe Arlene Mora-Romero³. ¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Colegio de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Calle 16 S/N Esquina Japaraqui, Juan José Ríos, El Estero, Sinaloa, México. C. P. 81110. ²Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte; Lázaro Cárdenas, 315 Pte. Col. Centro, Los Mochis Sinaloa, México C. P. 81200. ³Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Los Mochis, Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Boulevard Macario Gaxiola y Carretera Internacional S/N Los Mochis, Sinaloa, México. C. P. 81223.

***Autor de Correspondencia:**

Gabriel Antonio Lugo-García
gabriel_lugo9010@
hotmail.com

Sección:
Número Especial

Recibido:
23 Noviembre, 2024

Aceptado:
28 Marzo, 2025

Publicado:
17 Abril, 2025

Cita:

Herrera-Rodríguez G, Lugo-García GA, Irazoqui-Acosta MB, Muñoz-Bojórquez DL, Armenta-López SE, et al. 2025. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* against *Sclerotium rolfsii* from potato (*Solanum tuberosum*). Revista Mexicana de Fitopatología 43(4): 63. <https://doi.org/10.18781/R.ME.X.FIT.2024-10>

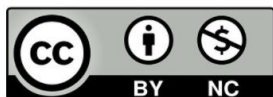
RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. *Trichoderma* constituye una alternativa viable para reducir el potencial destructivo de la pudrición blanda (*Sclerotium rolfsii*) en el cultivo de papa. Los objetivos de la investigación fueron determinar la efectividad antagónica *in vitro* de *Trichoderma asperellum*, *T. asperelloides*, *T. afroharzianum* y *T. azevedoi* contra *S. rolfsii* (Scr4 y Scr17) y determinar las interacciones hifales de los antagonistas, además de determinar la inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* (Scr4) mediante metabolitos volátiles producidos por las especies de *Trichoderma*.

Materiales y Métodos. Se estudió la efectividad biológica *in vitro* de 16 aislados de *T. asperellum*, cinco de *T. asperelloides*, cuatro de *T. afroharzianum*, uno de *T. azevedoi*, sobre la inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* (Scr4 y Scr17). También, se determinó el tipo de interacción hifal de los mismos aislados de *Trichoderma* spp. y *S. rolfsii* (Scr4). Se evaluó el efecto de los metabolitos volátiles producidos por los aislados de *Trichoderma* spp. sobre la inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* (Scr4). Los datos sobre inhibición del crecimiento micelial se analizaron mediante análisis estadístico no paramétrico (Kruskal-Wallis) y la separación de medias se realizó mediante los procedimientos de Conover (1999) con ($P \leq 0.05$).

Resultados. En las confrontaciones duales, especies de *Trichoderma* mostraron inhibiciones en crecimiento micelial de 21.0 a 75.4 % y de 23.6 a 77.1 % en los aislados Scr4 y Scr17 de *S. rolfsii*, respectivamente. Las interacciones hifales de las mismas especies de *Trichoderma*, consistieron en vacuolización, granulación, enrollamiento, adhesión, lisis y penetración en el patógeno (Scr4); las cuatro especies de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento micelial (26.0 a 81.4 %) de *S. rolfsii*. *T. azevedoi* destacó entre los aislados por mostrar mayor capacidad antagónica en todas las pruebas.

Conclusión. Los resultados indican que las especies de *Trichoderma*, en especial *T. azevedoi* (TAI73), inhibió el crecimiento de *S. rolfsii* Scr4 (75.4 %) y Scr17 (77.1 %). *T.*



azevedoi (TAI73) causó vacuolización, granulación, enrollamiento, adhesión y lisis de las hifas en aislado Scr4

Palabras clave: Antagonista, Control Biológico, Inhibición Micelial, Metabolitos

INTRODUCCIÓN

Sclerotium rolfsii es un hongo fitopatógeno presente en el suelo, considerado como el agente causal de la pudrición de los tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*). También provoca la pudrición de tallos, raíces, pecíolos, hojas y frutos en diversos cultivos. El hongo ha causado pérdidas de hasta del 15 % de la producción en el cultivo de papa en Italia (Garibaldi *et al.*, 2007). Los síntomas inician con pudrición seca en la base del tallo, además necrosis en el tejido vascular; las hojas de las plantas infectadas presentan clorosis, conforme la enfermedad avanza las plantas se marchitan y los tubérculos se pudren. El hongo produce micelio blanco en forma de abanico, sobre el tejido afectado, cuando este madura se producen esclerocios, los cuales constituyen la principal fuente de inóculo primario, y se dispersan por medio del agua, residuos vegetales, suelo y animales (Kator *et al.*, 2015; Roca *et al.*, 2016). En Sinaloa, México, la enfermedad ha sido subestimada por los productores de papa, pero se estima que ésta ha causado pérdidas de hasta 20 % de la producción en predios con suelos que retienen alta humedad (arcillosos) y coinciden con el incremento de la temperatura ambiental superiores a los 30 °C, además los daños se incrementan cuando el productor pospone la cosecha, lo que propicia que el hongo incremente el daño a los tubérculos que permanecen en el suelo.

Los fungicidas sintéticos se utilizan para combatir diferentes especies de hongos fitopatógenos; no obstante, la aplicación excesiva de plaguicidas ha ocasionado problemas ambientales y de salud humana (Brauer *et al.*, 2019). Por otro lado, para el control de *S. rolfsii* se han utilizado otros métodos con enfoque ecológico, como es el uso de agentes de biocontrol, lo cual resulta en una prometedora alternativa (Mishra *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2020). En este sentido, las diferentes especies de *Trichoderma* son las más utilizadas como biocontroladores, ya que presentan diferentes mecanismos de acción (competencia por el sustrato, micoparasitismo y antibiosis) que permiten manejar diversas enfermedades causadas por fitopatógenos (Infante *et al.*, 2009; Adnan *et al.*, 2019; Garrido y Vilela, 2019; Andrade-Hoyos *et al.*, 2020; Pérez *et al.*, 2020; Asad, 2022). Aun cuando estudios de antagonismo *in vitro* entre especies de *Trichoderma* y *S. rolfsii* en papa son nulos; otros estudios en otros hospedantes se han consignado buen control al utilizar *Trichoderma* spp. como antagonista contra *S. rolfsii* obtenidos de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), repollo (*Brassica oleracea*), betel (*Piper betle*), lenteja (*Lens esculenta*), garbanzo (*Cicer arietinum*), calabaza (*Cucurbita pepo*), entre otros (Díaz-Nájera *et al.*, 2018; Kushwaha *et al.*, 2018; Chandra-Sekhar *et al.*, 2020; Kamel *et al.*, 2020; Andrade-Hoyos *et al.*, 2023). *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. viride*, *T. virens* y *T. asperellum* producen distintos metabolitos secundarios, que activan los mecanismos de defensa, promueven el desarrollo y crecimiento de las plantas; además de inhibir el desarrollo de los patógenos (Lee *et al.*, 2016; Chandra *et al.*, 2020; Vineela *et al.*, 2020; Safari *et al.*, 2022; Guzmán *et al.*, 2023). Los metabolitos que producen pueden ser volátiles y no volátiles; entre los metabolitos volátiles se encuentran el ácido acético, 2-pentilfuran, 6-pentil-2H-piran-2-ona, 2-metil-

1-butanol entre otros, los cuales inhiben a *S. rolfsii* (Phoka *et al.*, 2020; Sridharan *et al.*, 2020).

En México, *S. rolfsii* ha mostrado altos niveles de incidencia en lotes comerciales de papa de Sonora y Sinaloa; sin embargo, la evaluación de efectividad biológica de las especies de *Trichoderma* contra este fitopatógeno bajo condiciones controladas, invernadero y campo, no se ha determinado, por lo que es importante generar alternativas ecológicas para el manejo de este hongo en el corto plazo. Por lo anterior, los objetivos de este estudio fueron determinar la capacidad antagónica *in vitro* de 26 aislados de *Trichoderma* mediante confrontaciones duales, así como, identificar las interacciones hifales y evaluar el efecto de los metabolitos volátiles contra el crecimiento micelial de aislados de *S. rolfsii* obtenidos de suelos sometidos a la siembra de papa en los estados de Sonora y Sinaloa, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de aislados. En el estudio, se utilizaron 16 aislados de *T. asperellum* (TAM), cinco de *T. asperelloides* (TES), cuatro de *T. afroharzianum* (TAF), uno de *T. azevedoi* (TAI) y dos de *S. rolfsii* (Scr4 y Scr17). Dichos aislados fueron proporcionados por el banco microbiológico del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario de la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte. Los aislados se obtuvieron de los municipios Altar y Caborca, pertenecientes al estado de Sonora, y Ahome, Guasave, El Fuerte y Sinaloa de Leyva, del estado de Sinaloa, durante los ciclos agrícolas del 2019-2021. Las secuencias de los aislados se depositaron en el GenBank, con los códigos OR521159-OR521184 para *Trichoderma* y OR514113 y OR514124 para *Sclerotium rolfsii* (Cuadro 1).

Efecto inhibitorio *in vitro* de 26 aislados de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium rolfsii*. El antagonismo *in vitro* de 26 aislados de cuatro especies de *Trichoderma* con tres días de crecimiento se determinó contra dos aislados de *S. rolfsii* (Scr4 y Scr17) de siete días de crecimiento en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) (BD Bioxon, Becton, Dickinson de México, S.A. de C.V.). La evaluación se llevó a cabo, mediante la técnica de cultivo dual (Dennis y Webster, 1971). Discos miceliales de 5 mm de diámetro fueron obtenidos tanto de las colonias puras de los aislados antagónicos como del hongo. Los discos de *S. rolfsii*, se colocaron en la periferia de la caja Petri de 90 mm de diámetro y de *Trichoderma* spp. en el extremo opuesto. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cuatro réplicas (cuatro cajas Petri) por cada combinación de *S. rolfsii*-*Trichoderma*. El experimento se desarrolló en dos ocasiones.

Cajas Petri con PDA que contenían cultivos individuales tanto de *S. rolfsii* como de *Trichoderma* sirvieron como control (Pacheco *et al.*, 2016). Las cajas Petri selladas con Parafilm, se incubaron a 25 ± 1 °C en oscuridad constante en una cámara bioclimática Thermo Scientific. Para determinar la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp., se midió el crecimiento micelial, cada 24 h después de la siembra y terminó cuando *S. rolfsii* llenó las cajas Petri del grupo control. El porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del patógeno de prueba (I) se calculó con la siguiente ecuación: Porcentaje de inhibición: $I = C - T / C \times 100$, donde: C= Crecimiento del patógeno control y T= Crecimiento del patógeno en tratamiento (Kotasthane *et al.*, 2014). La efectividad biológica de las especies

de *Trichoderma* en la inhibición de *Sclerotium rolfii* se determinó mediante la escala de clases del 1 al 5 de Bell *et al.* (1982) donde: clase 1) *Trichoderma* cubrió por completo la superficie del medio de cultivo, clase 2) *Trichoderma* creció al menos el 65 % del medio, clase 3) *Trichoderma* y *S. rolfii* crecieron en un 50 % del medio, clase 4) *S. rolfii* creció al menos el 65 % del medio y clase 5) *S. rolfii* creció completo sobre la superficie del medio de cultivo.

Cuadro 1. Origen e identificación de aislados de *Sclerotium rolfii* y especies de *Trichoderma*.

Especie/aislado	Año de muestreo	Localidad	Código en Gen Bank
<i>Sclerotium rolfii</i> /Scr4	2019	Ahome, Sinaloa	OR514113
<i>Sclerotium rolfii</i> /Scr17	2019	Ahome, Sinaloa	OR514124
<i>T. asperelloides</i> /TES19	2020	Caborca, Sonora	OR521159
<i>T. asperelloides</i> /TES20	2020	Altar, Sonora	OR521160
<i>T. afroharzianum</i> /TAF21	2020	Altar, Sonora	OR521161
<i>T. asperellum</i> /TAM22	2020	Caborca, Sonora	OR521162
<i>T. asperelloides</i> /TES23	2020	Caborca, Sonora	OR521163
<i>T. asperelloides</i> /TES24	2020	Caborca, Sonora	OR521164
<i>T. asperelloides</i> /TES26	2020	Caborca, Sonora	OR521165
<i>T. asperellum</i> /TAM27	2019	Guasave, Sinaloa	OR521166
<i>T. asperellum</i> /TAM30	2019	El Fuerte, Sinaloa	OR521167
<i>T. asperellum</i> /TAM31	2019	Guasave, Sinaloa	OR521168
<i>T. afroharzianum</i> /TAF33	2020	Sinaloa de Leyva, Sinaloa	OR521169
<i>T. asperellum</i> /TAM35	2020	Ahome, Sinaloa	OR521170
<i>T. asperellum</i> /TAM37	2020	Guasave, Sinaloa	OR521171
<i>T. afroharzianum</i> /TAF38	2020	Guasave, Sinaloa	OR521172
<i>T. asperellum</i> /TAM57	2021	Ahome, Sinaloa	OR521173
<i>T. asperellum</i> /TAM59	2021	Guasave, Sinaloa	OR521174
<i>T. asperellum</i> /TAM64	2021	Ahome, Sinaloa	OR521175
<i>T. asperelloides</i> /TES65	2021	Ahome, Sinaloa	OR521176
<i>T. asperellum</i> /TAM67	2021	Ahome, Sinaloa	OR521177
<i>T. asperellum</i> /TAM68	2021	Ahome, Sinaloa	OR521178
<i>T. asperellum</i> /TAM69	2021	Ahome, Sinaloa	OR521179
<i>T. asperellum</i> /TAM70	2021	Ahome, Sinaloa	OR521180
<i>T. azevedoi</i> /TAI73	2021	Ahome, Sinaloa	OR521181
<i>T. asperellum</i> /TAM74	2021	Ahome, Sinaloa	OR521182
<i>T. asperellum</i> /TAF75	2021	Ahome, Sinaloa	OR521183
<i>T. asperellum</i> /TAM76	2020	Caborca, Sonora	OR521184

Interacción hifal de *Trichoderma* spp. contra *S. rolfii*. La interacción hifal de 26 aislados de *Trichoderma* spp. contra *S. rolfii* (Scr4) se evaluó mediante la metodología de cultivos duales (Dennis y Webster, 1971). La observación de la interacción se llevó a cabo al momento del contacto entre los hongos, de los cuales se tomaron tres muestras de la zona de interacción. Para esto, se colocó un fragmento de cinta adhesiva transparente

sobre las hifas del hongo y de *Trichoderma* spp., enseguida la cinta se colocó sobre una gota de lactofenol-azul de algodón en un portaobjetos y se observó al microscopio óptico para identificar vacuolización, granulación, enrollamiento, adhesión, lisis o penetración causados por los aislados de *Trichoderma* spp. (Martínez *et al.*, 2018).

Efecto de metabolitos volátiles de especies de *Trichoderma* con actividad antifúngica contra *S. rolfsii*. Para determinar el efecto inhibitorio de metabolitos volátiles de los 26 aislados de *Trichoderma* spp. contra un aislado de *S. rolfsii* (Scr4), éstos se sembraron en PDA y se incubaron a 25 ± 2 °C por tres y siete días, respectivamente. Posteriormente, discos del mismo medio de 5 mm de diámetro con micelio activo de *S. rolfsii* y 26 aislados de *Trichoderma* spp. se transfirieron al centro de cajas Petri con PDA. El inóculo de las especies de *Trichoderma*, se transfirió 24 h antes que el de *S. rolfsii*. Para confrontar los aislados, las bases de las cajas Petri se ensamblaron y se sellaron con Parafilm (Rajani *et al.*, 2021). En la parte inferior se ubicó a *Trichoderma* y en la parte superior *S. rolfsii* (Dennis y Webster, 1971; Mokhtar y Dehimat, 2012). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cuatro réplicas por cada combinación de *S. rolfsii*-*Trichoderma*. El experimento se desarrolló en dos ocasiones. Como control se incluyeron cajas Petri con PDA con cultivos individuales de *S. rolfsii* como de *Trichoderma*, las cuales se incubaron a 25 ± 2 °C. El efecto de inhibición de *Trichoderma* spp. se determinó una vez que *S. rolfsii* cubrió el medio de cultivo en el tratamiento control sin *Trichoderma* para lo cual se consideró el porcentaje de inhibición del crecimiento de *S. rolfsii* mediante la fórmula descrita por Kotasthane *et al.* (2014), donde: Porcentaje de inhibición: $I = C - T / C \times 100$, donde: C= Crecimiento del patógeno testigo, T= Crecimiento del patógeno en tratamiento.

Análisis estadísticos de datos. Los datos sobre inhibición micelial *in vitro* mediante confrontaciones en cultivos duales de los 26 aislados de *Trichoderma* contra dos aislados de *S. rolfsii*; de igual forma, los datos de inhibición del crecimiento micelial de un aislados de *S. rolfsii* por los metabolitos volátiles de 26 aislados de *Trichoderma* spp., se analizaron mediante estadística no paramétrica (Kruskal-Wallis). La separación de medias de inhibición del crecimiento micelial se realizó mediante los procedimientos de Conover (1999) con ($P \leq 0.05$).

RESULTADOS

Inhibición *in vitro* de aislados de *Trichoderma* spp. sobre *S. rolfsii*. Los resultados mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el efecto inhibitorio *in vitro* de *S. rolfsii* entre los 26 aislados de *Trichoderma* evaluados, ya que inhibieron los dos aislados de *S. rolfsii* (Scr4 y Scr17), con porcentaje de inhibición de 21.0 a 75.4 % en Scr4 y de 23.6 a 77.1 % en Scr17.

El aislado TAI73 de *T. azevedoi* mostró el mayor efecto inhibitorio *in vitro* en el crecimiento micelial del aislado Scr4 de *S. rolfsii* (Figura 1A) con porcentaje de inhibición de 75.4 %, seguido de los aislados TAM74 (68.9 %), TAM30 (66.6 %), TAF75 (66.0 %), TES65 (65.0 %), TES24 (64.9 %), TAM68 (64.9 %) y TAM37 (64.8 %). Todos los niveles de inhibición se ubicaron en la clase 2, sin diferencias significativas entre éstos ($P \geq 0.05$) pero sí con el resto de los aislados de *Trichoderma*. Mientras que el aislado

TAF33 mostró el menor porcentaje de inhibición (21.0 %) (Figura 1B) y correspondió a la clase 4, seguido de TAM70 (56.7 %), TAF21 (57.2 %), TAM76 (57.3 %), TAM57 (57.3 %) y TAM31 (59.0 %), ubicándose todas en la clase 3, sin diferencias significativas entre tratamientos ($P \geq 0.05$) (Cuadro 2).

Por otro lado, el aislado de *Trichoderma* TAI73 mostró el mayor nivel de inhibición en el crecimiento micelial de Scr17 con 77.1 % (clase 2), seguido de TAM69 (68.8 %), TES24 (67.9 %) (Figura 1C), TAM30 (67.9 %), TES65 (67.3 %), TAF75 (67.0 %), TAM74 (66.4 %), TAM35 (66.2 %) y TAM37 (66.1 %) en clase 2, sin diferencias significativas entre ellos ($P \geq 0.05$) (Cuadro 2). En cambio, el aislado de *Trichoderma* TAF33 (Figura 1D) (clase 4) con 23.6 % mostró el menor porcentaje de inhibición contra Scr17, seguido de TAF38 (52.8 %), TAM31 (57.4 %), TAM68 (59.8 %), TAM59 (60.1 %), TAM64 (60.3 %) y TES20 (60.3 %) todas en clase 3, sin diferencias significativas entre ellos ($P \geq 0.05$) (Cuadro 2).

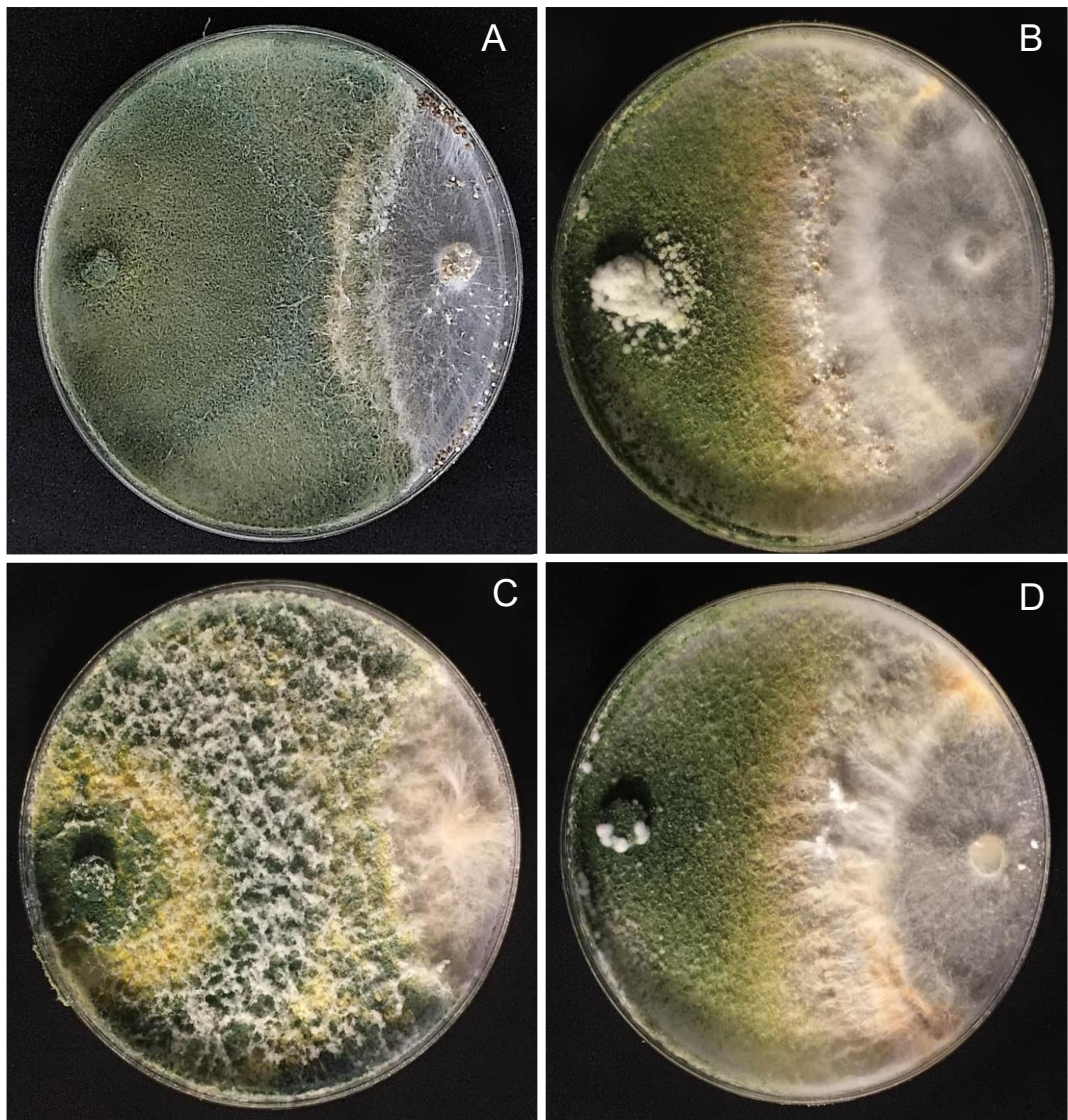


Figura 1. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. (izquierda) contra *S. rolfsii* (derecha). (A) Aislado de *Trichoderma* TAI73 contra *S. rolfsii* Scr4, (B) *Trichoderma* TAF33 contra *S. rolfsii* Scr4, (C) *Trichoderma* TES24 contra *S. rolfsii* Scr17 y (D) *Trichoderma* TAF33 contra *S. rolfsii* Scr17.

El aislado de *T. azevedoi* (TAI73) presentó el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial *in vitro* del aislado Scr4 de *S. rolfsii*, con 75.4 % de inhibición (Cuadro 2); mientras que el mismo aislado de *Trichoderma* ejerció una inhibición de 77.1 % en el aislado Scr17 de *S. rolfsii*. En contraste, *T. afroharzianum* (TAF33) tuvo el menor efecto inhibitorio sobre los dos aislados de *S. rolfsii* (Cuadro 2). Se observó una marcada variación en el efecto de los aislados de *Trichoderma* sobre la inhibición de *S. rolfsii* con diferencias significativas entre ellos ($P \leq 0.05$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Antagonismo *in vitro* de 26 aislados de *Trichoderma* spp. contra dos aislados de *Sclerotium rolfsii*.

Aislado Scr4 de <i>S. rolfsii</i>			Aislado Scr17 de <i>S. rolfsii</i>		
Aislado de <i>Trichoderma</i>	% de inhibición	Escala	Aislado de <i>Trichoderma</i>	% de inhibición	Escala
Testigo	0.0 a ^z	5	Testigo	0.0 a*	5
TAF33	21.0 ab	4	TAF33	23.6 ab	4
TAM70	56.7 abc	3	TAF38	52.8 ab	3
TAF21	57.2 abcd	3	TAM31	57.4 abc	3
TAM76	57.3 abcd	3	TAM68	59.8 abc	3
TAM57	57.3 abcd	3	TAM59	60.1 abcd	3
TAM31	59.0 abcde	3	TAM64	60.3 abcd	3
TES26	60.3 bcdef	2	TES20	60.3 abcde	3
TAM67	60.5 cdefg	2	TAF21	60.4 bcde	2
TAF38	60.5 cdefg	2	TES26	60.5 bcde	2
TAM64	60.5 cdefg	2	TAM57	61.9 cdef	2
TAM59	60.9 defgh	2	TAM23	61.9 cdef	2
TAM23	61.9 efghi	2	TAM70	62.6 defg	2
TAM27	62.0 efghi	2	TAM67	63.0 defg	2
TAM22	62.7 fghij	2	TAM22	63.4 efgh	2
TAM69	63.2 fghij	2	TAM27	63.4 efgh	2
TES20	63.3 fghij	2	TAM76	64.7 fghi	2
TES19	63.4 ghijk	2	TES19	65.0 fghi	2
TAM35	63.6 hijk	2	TAM37	66.1 ghij	2
TAM37	64.8 ijkl	2	TAM35	66.2 ghij	2
TAM68	64.9 ijkl	2	TAM74	66.4 ghij	2
TES24	64.9 ijkl	2	TAF75	67.0 hij	2
TES65	65.0 jkl	2	TES65	67.3 hij	2
TAF75	66.0 jkl	2	TAM30	67.9 ij	2
TAM30	66.6 kl	2	TES24	67.9 ij	2
TAM74	68.9 l	2	TAM69	68.8 j	2
TAI73	75.4 l	2	TAI73	77.1 j	2

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$), Kruskal-Wallis.

Determinación de interacciones hifales de *Trichoderma* spp. y *S. rolfsii*. La zona de encuentro hifal entre aislados de *Trichoderma* spp. y *S. rolfsii* (Scr4) mostró varios tipos de interacción; donde 23 aislados del antagonista causaron lisis, (Figura 2A), 20 produjeron granulación (Figura 2B), 20 mostraron adhesión (Figura 2C), 19 presentaron enrollamiento (Figura 2D), 13 indujeron vacuolización (Figura 2E) y uno mostró penetración (Figura 2F). El aislado TES65 de *T. asperelloides* fue el único que penetró las hifas de *S. rolfsii* (Cuadro 3, Figura 2F). Los aislados de *Trichoderma* spp. TAM37, TAM59, TES65, TAI73 y TAM76 mostraron hasta cinco interacciones al confrontarlo con *S. rolfsii*. Mientras que los aislados TES20, TAF21, TAM23, TES24, TES26, TAM30, TAM31, TAF33, TAM35, TAM57, TAM68, TAM70 y TAF75 del hongo antagonístico mostraron tres interacciones (Cuadro 3).

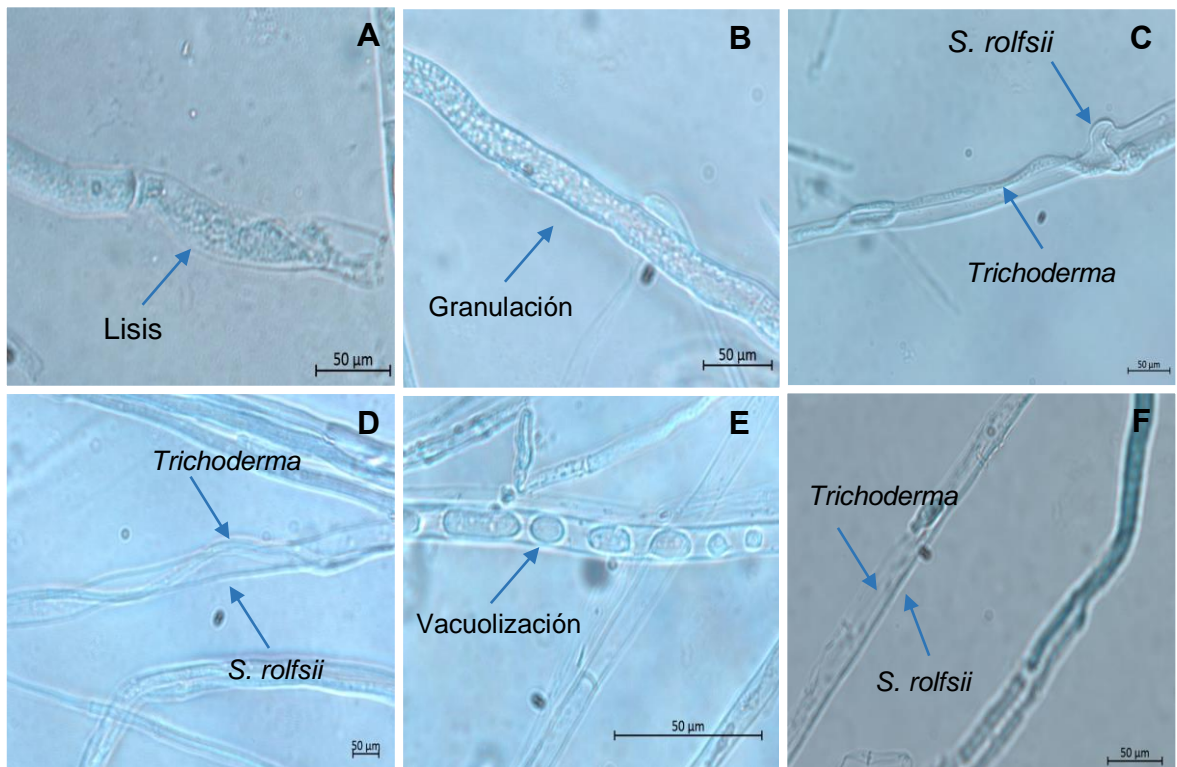


Figura 2. Interacciones hifales entre aislados de *Trichoderma* spp. y *Sclerotium rolfsii*. (A) Lisis (TAM67), (B) granulación (TES65), (C) adhesión (TAM69), (D) enrollamiento (TAM59), (E) vacuolización (TAM76) y (F) penetración (TES65).

Cuadro 3. Interacción hifal *in vitro* de 26 aislados de *Trichoderma* spp. y *Sclerotium rolfsii* (Scr4).

Aislado de <i>Trichoderma</i>	Tipos de interacciones hifales					
	Lisis	Granulación	Adhesión	Enrollamiento	Vacuolización	Penetración
TES19	x		x	x	x	
TES20	x	x	x			
TAF21	x		x		x	
TAM22	x	x		x	x	
TAM23	x	x		x		
TES24		x	x	x		
TES26		x	x	x		
TAM27	x	x	x	x		
TAM30	x	x	x			
TAM31	x	x			x	
TAF33	x		x	x		
TAM35	x	x			x	
TAM37	x	x	x	x	x	
TAF38	x	x	x	x		
TAM57	x			x	x	
TAM59	x	x	x	x	x	
TAM64	x	x	x		x	
TES65	x	x	x	x		x
TAM67		x	x	x	x	
TAM68	x		x	x		
TAM69	x	x	x	x		
TAM70	x		x	x		
TAI73	x	x	x	x	x	
TAM74	x	x	x	x		
TAF75	x	x			x	
TAM76	x	x	x	x	x	

Nota: El montaje de la zona de interacción se tiñó con lactofenol-azul cuando las hifas de los hongos interactuaron.

Inhibición *in vitro* de metabolitos volátiles de *Trichoderma* contra *S. rolfsii*. Los metabolitos volátiles de 26 aislados de *Trichoderma* spp. inhibieron el crecimiento micelial de *S. rolfsii* (Scr4) *in vitro*. El porcentaje de inhibición varió de 26 a 81.4 %. El mayor porcentaje de inhibición lo ejerció el aislado TAI73 de *T. azevedoi* con un 81.4 %, mientras que los porcentajes de inhibición de los aislados TAM68 (Figura 3A), TES65, TAM74, TAM57, TAF75, TAM70 y TAM37 variaron de 78.2 a 70.9 %, sin diferencias significativas entre ellos ($P \geq 0.05$) (Cuadro 4). Los aislados TAM59, TAM35, TES26, TES19, TAF38, TAM27 y TAM30 (Figura 3B), ejercieron una inhibición de 49.6 a 57.1 % contra *S. rolfsii*. El aislado TAF33 de *T. afroharzianum* ejerció el menor porcentaje de inhibición equivalente a 26 %. La variación del efecto inhibitorio de los aislados de *Trichoderma* se reflejó con diferencias significativas entre aislados ($P \leq 0.05$) (Cuadro 4).

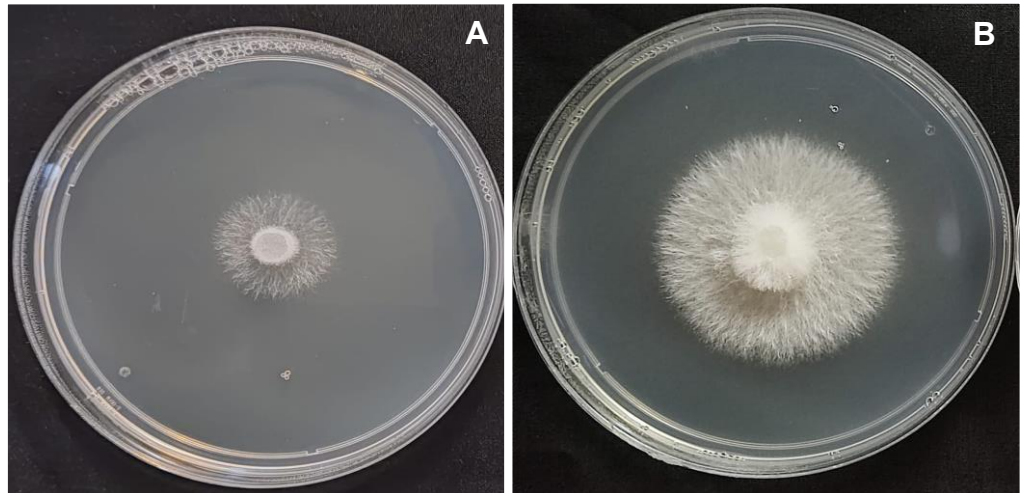


Figura 3. Efecto inhibitorio de metabolitos volátiles de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium rolfsii*. (A) Aislado de *Sclerotium rolfsii* (Scr4) expuesto a metabolitos volátiles de *Trichoderma* TAM68 y (B) *S. rolfsii* (Scr4) expuesto a metabolitos volátiles de *Trichoderma* TAM30.

Cuadro 4. Efecto de metabolitos volátiles de aislados de *Trichoderma* contra *Sclerotium rolfsii* Scr4.

Aislado de <i>Trichoderma</i>	% de inhibición	Aislado de <i>Trichoderma</i>	% de inhibición
Testigo	00.0 a ^z	TAM31	62.5 efghij
TAF33	26.0 a	TAM64	63.0 fghijk
TAM59	49.6 ab	TAM76	65.8 ghijk
TAM35	50.3 ab	TAM67	68.1 hijkl
TES26	54.1 abc	TAF21	69.2 ijklm
TES19	55.6 abcd	TAM37	70.9 ijklmn
TAF38	56.3 abcde	TAM70	72.0 jklmn
TAM27	56.9 abcdef	TAF75	73.5 klmn
TAM30	57.1 abcdef	TAM57	73.5 klmn
TES20	58.4 bcdefg	TAM74	76.3 lmn
TES24	58.7 bcdefg	TES65	76.3 lmn
TAM22	59.5 cdefgh	TAM68	78.2 mn
TAM69	61.4 defghi	TAI73	81.4 n
TAM23	62.2 efghij		

^zMedias con una letra común no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$), Kruskal-Wallis.

DISCUSIÓN

El uso de *Trichoderma* como agente de control biológico en el cultivo de papa es limitado, pues los productores prefieren el uso de fungicidas sintéticos, argumentando

que la eficacia de este tipo de sustancia es conocida. En México, no hay evidencia científica sobre el uso de diferentes especies de *Trichoderma* para controlar la pudrición blanda de la papa.

En este estudio, se encontró que los aislados de *T. azevedoi*, *T. asperellum*, *T. asperelloides* y *T. afroharzianum* provenientes de suelos sometidos al cultivo de papa, mostraron diferentes niveles de inhibición sobre el crecimiento micelial de *S. rolfsii* *in vitro*. *T. azevedoi* presentó el mayor efecto inhibitorio, con un 75.4 % contra *S. rolfsii* (Scr4) y un 77.1 % contra la misma especie (Scr17). Estos resultados coinciden con los reportados por Kamel *et al.* (2020), quienes evaluaron seis especies de *Trichoderma* contra tres aislados de *S. rolfsii* provenientes de cultivos de frijol, tomate y repollo en Egipto. En este estudio, *T. viride* mostró el mayor efecto inhibitorio (85.6 %) contra *S. rolfsii* obtenido de tomate, mientras *T. harzianum* inhibió en 79.3 y 77.8 % al mismo patógeno aislado de repollo y frijol, respectivamente. De manera similar Vineela *et al.* (2020) reportaron que *T. hamatum* inhibió el crecimiento micelial de *S. rolfsii* en un 75.2 %, seguido de *T. harzianum* (74.7 %) y *T. viride* (71.9 %), obtenidos de cultivos de cacahuete (*Arachis hypogaea*) en la India. Por otro lado, Safari *et al.* (2022) evaluaron 30 hongos antagonistas mediante cultivo dual y reportaron que *T. virens* mostró la mayor capacidad de supresión del crecimiento micelial de *S. rolfsii* (90.8 %) aislado de cultivos de cacahuete en Irán, seguido de *T. viride* con un 66.8 %. De manera similar Kushwaha *et al.* (2018) determinaron que *T. harzianum* ejerció un efecto inhibitorio de 63.5 % *in vitro*, seguido de *T. virens* con un 51.5 % y *T. viride* con 50.8 % contra *S. rolfsii* aislado de cultivos de lenteja (*Lens culinaris*) en la India. En contraste Chandra-Sekhar *et al.* (2020) reportaron una baja inhibición *in vitro* del crecimiento micelial de *S. rolfsii* obtenido de tomate en la India, donde *T. harzianum* inhibió un 50 %, *T. viride* 39.7 % y *T. asperellum* 33.8 %.

En el presente estudio, se encontró que, de los 26 aislados de *Trichoderma* evaluados contra *S. rolfsii* (Scr4), 20 de ellos (73.0 %) se ubicaron en la clase 2 de acuerdo a la escala de Bell (Bell *et al.*, 1982); mientras que 17 aislados del antagonista (73.0 %) se clasificaron en la clase 2 en cuanto a la inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* (Scr17). Estos resultados sugieren que su potencial de control debería de evaluarse en campo. Por otro lado, Kotasthane *et al.* (2014) evaluaron 20 aislados de *T. harzianum*, *T. aureoviride*, *T. viride* y *T. virens* procedentes de cultivos de arroz (*Oryza sativa*) en la India, de los cuales 19 se ubicaron en la clase 1 y 2, mientras que solo uno se clasificó en clase 3. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Bell *et al.* (1982), quienes evaluaron 77 aislados de *Trichoderma*. En su estudio, el antagonismo contra *S. rolfsii* no fue evidente, ya que 88.0 % de los aislados se clasificaron en las clases 3, 4 y 5 con acción limitada, mientras que sólo el 1.0 % se ubicó en la clase 2. Es importante recalcar que la competencia por espacio y nutrientes en las especies de *Trichoderma* en procesos antagónicos contra fitopatógenos es una característica deseable, ya que está asociada a su crecimiento rápido y producción de metabolitos antimicrobianos (Chandra *et al.*, 2020). Por ello, es necesario realizar estudios adicionales para identificar los metabolitos secundarios, especialmente en *T. azevedoi*, que mostró el mayor antagonismo contra los dos aislados de *S. rolfsii* en este trabajo.

Con relación a la interacción hifal, los aislados de *Trichoderma* incluidos en el presente estudio provocaron vacuolización, granulación, enrollamiento, adhesión, lisis y penetración de las hifas de *S. rolfsii*, lo que causó la desintegración del micelio del hongo, resaltando *T. azevedoi*, que presentó el mayor número de interacciones hifales. Resultados

similares fueron reportados por Kamel *et al.* (2020), quienes observaron que la mayoría de las especies de *Trichoderma* se adhirieron, enrollaron y provocaron la lisis de las hifas del patógeno en la India. En nuestro estudio destaca la acción de *T. azevedoi*, donde en las diferentes interacciones pueden atribuirse la capacidad de producción de enzimas hidrolíticas como la glucanasa y quitinasa, los cuales afectan la integridad celular de las hifas, provocando el colapso del micelio de *S. rolfsii* (Kotasthane *et al.*, 2014; Kamel *et al.*, 2020).

Los resultados del presente estudio indican variabilidad en la inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* (26.0 a 81.4 %), resaltando *T. azevedoi* en su capacidad inhibitoria; esto coincide con lo reportado por Sangle *et al.* (2016), quienes evaluaron 30 aislados de *T. harzianum*, *T. viride*, *T. hamatum*, *T. reesei*, *T. piluliferum* y *T. virens* contra *S. rolfsii* proveniente de cultivo de lenteja en la India, donde *T. harzianum* presentó el mayor efecto inhibitorio (84.5 %) del crecimiento micelial del patógeno. De igual manera, Amin *et al.* (2010), evaluaron *T. harzianum*, *T. virens* y *T. viride* contra *S. rolfsii* procedentes de diferentes cultivos en la India, obteniendo porcentajes de inhibición menores a los reportados en el presente estudio (20 al 40.0 %). Por otro lado, Ruangwong *et al.* (2021) analizaron el efecto inhibitorio de *T. asperelloides*, proveniente de flores de flamenco (*Anthurium* sp.) en Tailandia, contra *S. rolfsii*, el cual inhibió el crecimiento micelial del 41.2 %. En su estudio identificaron 17 tipos de metabolitos volátiles, entre los cuales destacó la presencia del 2-feniletanol, un compuesto con propiedades antifúngicas. Sridharan *et al.* (2020) encontraron que *T. longibrachiatum*, procedente del cultivo de arroz en la India, inhibió el crecimiento de *S. rolfsii* y *Macrophomina phaseolina* en 57 a 35.0 %, respectivamente. Además, este antagonista causó alteraciones en la estructura micelial, pues redujo el grosor del micelio y disminuyó el número de esclerocios en comparación con el patógeno en ausencia del antagonista. Estos resultados, evidencian la capacidad de los metabolitos volátiles producidos por aislados de *Trichoderma* para inhibir el crecimiento micelial de *S. rolfsii* sin necesidad de contacto directo entre estos hongos; esta característica reviste importancia en la protección de las plantas de papa contra *S. rolfsii* (Sangle *et al.*, 2016). Los resultados del presente estudio abren nuevas líneas de investigación relacionadas con la identificación de los mecanismos moleculares involucrado en la inhibición del crecimiento micelial, así como para evaluar la estabilidad de estos efectos en condiciones de campo. Los resultados del presente estudio son relevantes, ya que la mayoría de los aislados de *Trichoderma* mostraron potencial antagónico, destacando *T. azevedoi* como potencial agente de control biológico contra *S. rolfsii* en el cultivo de papa.

CONCLUSIONES

El aislado TAI73 de *T. azevedoi* presentó el mejor potencial antagónico para el control de *S. rolfsii* en todas las pruebas *in vitro* realizadas en el presente estudio. *T. azevedoi* inhibió en un 75.4 y 77.1 % el crecimiento micelial de los aislados Scr4 y Scr17 de *S. rolfsii*, respectivamente y se ubicó en la clase 2 contra ambos aislados en la escala de Bell, lo que muestra su alta capacidad antagónica. Este antagonista también causó vacuolización, granulación, enrollamiento, adhesión y lisis de las hifas de *S. rolfsii* (Scr4). Además, *T. azevedoi* produjo metabolitos volátiles, los cuales inhibieron en 84.1 % el crecimiento micelial *in vitro* del hongo. Estos resultados abren nuevas líneas de

investigación relativas a la determinación de la efectividad biológica de *T. azevedoi* como potencial agente de biocontrol en campo.

REFERENCIAS

- Adnan M, Islam W, Shabbir A, Khan K, Ghramh H, Chen H and Gou DL. 2019. Plant defense against fungal pathogens by antagonistic fungi with *Trichoderma* in focus. *Microbial Pathogenesis* 129: 7-18. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.042>
- Amin F, Razdan K, Mohiddin F, Bhat K and Sheikh A. 2010. Effect of volatile metabolites of *Trichoderma* species against seven fungal plant pathogens *In-vitro*. *Journal of Phytochemistry* 2: 34–37. https://www.researchgate.net/publication/273133786_Effect_of_volatile_metabolites_of_Trichoderma_species_against_seven_fungal_plant_pathogens_In-vitro
- Andrade-Hoyos P, Rivera-Jiménez MN, Landero-Valenzuela N, Silva-Rojas HV, Martínez-Salgado SJ y Romero-Arenas O. 2023. Beneficios ecológicos y biológicos del hongo cosmopolita *Trichoderma* spp. en la agricultura: una perspectiva en el campo mexicano. *Revista Argentina de Microbiología* 55: 366-377. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2023.06.005377>
- Andrade-Hoyos P, Silva-Rojas HV and 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: 1-17. <https://doi.org/10.3390/plants9091220>
- Asad SA. 2022. Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma* against fungal plant diseases-A review. *Ecological Complexity* 49: 100978. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2021.100978>
- Bell DK, Wells HD and Markham CR. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382. <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379>
- Brauer VS, Rezende CP, Pessoni AM, De Paula RG, Rangappa KS, Nayaka SC, Gupta VK and Almeida F. 2019. Antifungal agents in agriculture: friends and foes of public health. *Biomolecules* 9: 1-21. <https://doi.org/10.3390/biom9100521>
- Chandra-Sekhar J, Prakash MJ, Prasad R, Reddy VP, Kumar S, Thakur A, Pal J, Mishra JP and Reddy P. 2020. Isolation and *in vitro* evaluation of biocontrol agents, fungicides and essential oils against stem blight of tomato caused by *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 9: 700–705. www.phytojournal.com
- Conover W. J. 1999. *Practical nonparametric statistics*. New York: John Wiley and Sons, Inc. <https://es.scribd.com/document/440028505/W-J-Conover-Practical-Nonparametric-Statistics-3rd-Wiley-1999-compressed-pdf>
- Dennis C and Webster J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*, III Hyphal interactions. *Transactions British Mycological Society, Cambridge* 57: 363-369. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(71\)80050-5](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80050-5)
- Díaz-Najera JF, Sahagún CJ, Vargas Hernández M, Ayvar SS, Alvarado GOG, Villanueva VC and Acosta RM. 2018. Diagnosis and Integrated Management of Fruit Rot in *Cucurbita argyrosperma*, Caused by 50 *Sclerotium rolfsii*. *Plant Pathology Journal* 34: 171–181. <https://doi.org/10.5423/PJ.OA.08.2017.0185>
- Garibaldi A, Gilardi G, and Gullido GU. 2007. First report of southern blight incited by *Sclerotium rolfsii* on potato (*Solanum tuberosum*) in northern Italy. *The American Phytopathological Society* 9:1. <https://doi.org/10.1094/PD-90-1114C>
- Garrido M y Vilela N. 2019. Capacidad antagonista de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakatea sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de cultivos de arroz. *Scientia Agropecuaria* 10: 199-206. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.05>
- Guzmán GP, Kumar A, De los Santos Villalobos S, Parra CFI, Orozco MMC, Fadji AE, Hyder S, Babalola OO and Santoyo G. 2023. *Trichoderma* species: our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases- a review. *Plants* 12: 432. <https://doi.org/10.3390/plants12030432>
- Infante D, Martínez B, González N y Reyes Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista Protección Vegetal. La Habana* 24: 14-21. ISSN 2224-4697. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002.
- Kamel SF, Farag A, Ramadan AA and Tarek A. 2020. Bio-control potentials of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* the causative of root and crown rot in tomato, common bean and cabbage. *Egyptian Journal of Phytopathology* 48: 122-136. <https://doi.org/10.21608/ejp.2020.54217.1018>

- Khan RAA, Najeeb S, Mao, Zhenchuan, Ling J, Yang Y, Li Y and Xie B. 2020. Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against phytopathogenic bacteria and root-knot nematode. *Microorganisms* 8: 1-15. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030401>.han
- Kator L, Zakki Y and Ona D. 2015. *Sclerotium rolfsii*; Causative organism of southern blight, stem rot, white mold and sclerotia rot disease. *Annals of Biological Research* 6: 78-89. https://www.researchgate.net/publication/343268195_Sclerotium_rolfsii_Causative_organism_of_southern_blight_stem_rot_white_mold_and_sclerotia_rot_disease
- Kotasthane A, Agrawal T, Kushwah R and Rahatkar OV. 2014. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. Against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter melon. *European Journal of Plant Pathology* 141: 523-543. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0560-0>
- Kushwaha SK, Kumar S and Chaudhary B. 2018. Efficacy of *Trichoderma* against *Sclerotium rolfsii* causing collar rot disease of lentil under *in vitro* conditions. *Journal of Applied and Natural Science* 10: 307-312. https://www.researchgate.net/publication/324229779_Efficacy_of_Trichoderma_against_Sclerotium_rolfsii_causing_collar_rot_disease_of_lentil_under_in_vitro_conditions
- Lee S, Yap M, Behringer G, Hung R and Bennett JW. 2016. Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. *Fungal Biology and Biotechnology* 3: 1-14. <https://doi.org/10.1186/s40694-016-0025-7>.
- Martínez PHY, Torres CJA, Rodríguez HR, López SJA, Estrada DB and Osorio HE. 2018. Identification and evaluation of secondary metabolites by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) in native strains of *Trichoderma* species. *African Journal of Biotechnology* 17: 1162-1171. <https://doi.org/10.5897/AJB2018.16546>
- Mishra S, Singh A, Keswani C, Saxena A, Sarma BK and Singh HB. 2015. Harnessing plant-microbe interactions for enhanced protection against phytopathogens. 111-125. In: Arora NK (ed). *Plant microbe symbiosis applied facets*. Springer, New Delhi. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2068-8_5
- Mokhtar H and Dehimat A. 2012. Antagonism capability *in vitro* of *Trichoderma harzianum* against some pathogenic fungi. *Agriculture and Biology Journal of North America* 3: 452-460. <https://doi.org/10.5251/abjna.2012.3.11.452.460>
- Pacheco KR, Viscardi BS, Vasconcelos TM, Moreira GA, Vale HM and Blum LE. 2016. Efficacy of *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* and *T. reesei* against *Sclerotium rolfsii*. *Bioscience journal* 32: 412-421. <https://doi.org/10.14393/BJ-v32n2a2016-32732>
- Pérez A, Pérez M, Martínez C, Rollhaise H y Blengini M. 2020. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. *in vitro* como potenciales biofungicidas para el control de *Rhizoctonia solani* Kühn en la papa. *Agriscientia* 37: 21-33. <http://dx.doi.org/10.31047/1668.298x.v37.n2.29419>
- Phoka N, Suwannarach N, Lumyong S, Ito SI, Matsui K, Arikrit S and Sunpapao A. 2020. Role of volatiles from the endophytic fungus *Trichoderma asperelloides* PSU-P1 in biocontrol potential and in promoting the plant growth of *Arabidopsis thaliana*. *Journal Fungi* 6: 341. <https://doi.org/10.3390/jof6040341>.
- Rajani P, Rajasekaran C, Vasanthakumari MM, Olsson SB, Ravikanth G and Uma Shaanker R. 2021. Inhibition of plant pathogenic fungi by endophytic *Trichoderma* spp. through mycoparasitism and volatile organic compounds. *Microbiological Research* 242. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126595>
- Roca LF, Raya MC, Luque F, Agustí Brisach C, Romero J and Trapero A. 2016. First report of *Sclerotium rolfsii* causing soft rot of potato tubers in Spain. *Plant Disease*. The American Phytopathological Society 100: 2535-2535. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-15-1505-PDN>
- Ruangwong OU, Wonglom P, Suwannarach N, Kumla J, Thaochan N, Chomnunti P, Pitija K and Sunpapao A. 2021. Volatile organic compound from *Trichoderma asperelloides* TSU1: Impact on plant pathogenic fungi. *Journal Fungi* 7: 1-13. <https://doi.org/10.3390/jof7030187>
- Safari MMR, Farokhzad, M, Kaviani B and Kulus D. 2022. Endophytic fungi as Biocontrol agents against *Sclerotium rolfsii* Sacc. the causal agent of peanut white stem rot disease. *Cells* 11: 1-19. <https://doi.org/10.3390/cells11172643>
- Sangle UR, kumar S and Mishra JS. 2016. Effect of volatile metabolites released by different *Trichoderma* spp. on the growth of pathogen *Sclerotium rolfsii* and effect on sclerotia germination. *Journal Phytochemistry* 11: 2811-2816. https://www.researchgate.net/publication/273133786_Effect_of_volatile_metabolites_of_Trichoderma_species_against_seven_fungal_plant_pathogens_In-vitro
- Sridharan A, Thankappan S, Karthikeyan G and Sivakumar U. 2020. Comprehensive profiling of the VOCs of *Trichoderma longibrachiatum* EF5 while interacting with *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina*. *Microbiological Research* 236:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126436>
- Vineela DRS, Beura SK, Dhal A and Swain SK. 2020. Efficacy of bio-agents, botanicals, organic amendments against groundnut pathogens *Sclerotium rolfsii* and *Aspergillus niger* *in-vitro*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 9:

1206-1210. E-ISSN: 2278-4136. P-ISSN: 2349-8234. <https://www.phytojournal.com/archives/2020/vol9issue3/PartT/9-3-134-749.pdf>