

In vitro antagonism of *Trichoderma* against *Rhizoctonia solani*

Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* frente a *Rhizoctonia solani*

Jesús Orlando Pérez-González, ¹Agricultura Sustentable y Protegida, Universidad Tecnológica del Sur del Estado de Morelos (UTSEM). Carr. Puente de Ixtla-Mazatepec km 2.35, CP 62665, Puente de Ixtla, Mor., México; **Sergio Gavino Ramírez-Rojas***, ²Programa de Sanidad Forestal y Agrícola, Campo Experimental “Zacatepec”, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Carr. Zacatepec-Galeana km 0.5, CP 62780, Zacatepec, Mor., México; **Ramiro Rocha-Rodríguez**, Campo Experimental “Bajío”, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Carr. Celaya-San Miguel Allende km 6.5, CP 38110, Celaya, Gto, México; ²**Katya Ornelas-Ocampo**; ²**Jorge Miguel Paulino Vázquez-Alvarado**; **Filogonio Jesús Hernández-Guzmán**, Universidad Politécnica de Francisco I. Madero. Tepatepec, CP 42660, Francisco I. Madero, Hidalgo, México; ¹**Mariel Garduño-Audelo**.

*Corresponding author: sergioinifap@yahoo.com.mx

Received: April 16, 2023.

Accepted: August 18, 2023.

Pérez-González JO, Ramírez-Rojas SG, Rocha-Rodríguez R, Ornelas-Ocampo K, Vázquez-Alvarado JMP, Hernández-Guzmán FJ and Garduño-Audelo M. 2023. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* against *Rhizoctonia solani*. Mexican Journal of Phytopathology 41(3): 514-523.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2304-2>

First DOI publication: August 28, 2023.

Primera publicación DOI: 28 de Agosto, 2023.

Abstract. *Trichoderma* spp., is a highly efficient antagonist of root pathogens, such as *Rhizoctonia solani*, which causes loss in many crops. The aim of this research was to evaluate *in vitro* the antagonistic capacity of *T. viride*, *T. koningii*, *T. harzianum* and *Trichoderma* spp. isolates against *R. solani* from a potato crop. In confrontation tests, all *Trichoderma* isolates were classified as antagonists

Resumen. *Trichoderma* spp., es un antagonista muy eficiente de patógenos de las raíces de papa. *Rhizoctonia solani*, causa pérdidas en varios cultivos agrícolas. El objetivo de este trabajo, fue evaluar *in vitro* la capacidad antagónica de *T. viridie*; *T. koningii*; *T. harzianum* y *Trichoderma* spp. frente a *R. solani* proveniente de un cultivo de papa. En las pruebas de confrontación, todos los aislamientos de *Trichoderma* se ubicaron en la clase 2 de antagonismo de la escala de Bell, donde *T. harzianum* y *T. koningii* mostraron más de 60% de inhibición del crecimiento radial de *R. solani* a las 120 h. En la interacción de *T. harzianum* y *Trichoderma* spp. con *R. solani*, como estrategia de micoparasitismo, se observó vacuolización, lisis, enrollamiento y penetración; las dos últimas presentes en todos los aislados evaluados de *Trichoderma*.

Palabras clave: Confrontación, micoparasitismo, biocontrol, biofungicida.

class 2 according to Bell scale, where *T. harzianum* and *T. koningii* showed more than 60% inhibition of the radial growth of *R. solani* at 120 h. In the interaction between *T. harzianum* and *Trichoderma* spp. with *R. solani*, as mycoparasitism strategy, vacuolization, lysis, coiling, and penetration were demonstrated, the last two were present in all *Trichoderma* isolates evaluated.

Key words: Confrontation, mycoparasitism, biocontrol, biofungicide.

Potato (*Solanum tuberosum*) is one of the main global crops, after sugarcane (*Saccharum officinarum*), corn (*Zea mays*), rice (*Oryza sativa*) and wheat (*Triticum* spp.) (FAO, 2016). Diseases affecting roots, tubers and leaves of the potato plant can prevent proper tuber formation. One of such disease is black scab, caused by the pathogen *Rhizoctonia solani* (Betancourth *et al.*, 2021). This pathogen infects many wild and cultivated plants in Mexico (DGSV-CNRF, 2020).

To control *R. solani*, growers often apply synthetic fungicides such as Carbendazim, Copper phosphite and Thiabendazole (Alburqueque and Gusqui, 2018). Chemicals like Azoxystrobin and propiconazole also provide effective disease control (Khan and Bolton, 2010). However, chemical control is not recommended due to the high residue levels (Leadbeater and Gisi, 2010). Therefore, alternative methods to control *R. solani* have been explored, including biological control.

The antagonistic effect of some *Trichoderma* species on *R. solani* was first described in 1932 (Weindling, 1932). Today, *Trichoderma* is used to protect plants from root pathogens like *R. solani*, and to stimulate plant defense mechanisms (Korolev *et al.*, 2008). *Trichoderma* can parasitize and eliminate a wide range of fungal plant pathogens

La papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los principales cultivos a nivel mundial, después de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), maíz (*Zea mays*), arroz (*Oryza sativa*) y trigo (*Triticum* spp.) (FAO, 2016). Las enfermedades que afectan a la papa, lo hacen en las raíces, tubérculos y hojas, lo que impide la formación adecuada del tubérculo; dentro de estas, se encuentra la costra negra causada por *Rhizoctonia solani* (Betancourth *et al.*, 2021). Este patógeno infecta un gran número de plantas silvestres y cultivadas en México (DGSV-CNRF, 2020).

Para el control de *R. solani*, los productores aplican fungicidas sintéticos como Carbendazim, Fosfito de cobre y Tiabendazol (Alburqueque y Gusqui, 2018). El azoxistrobin y el propiconazol proporcionan un control eficaz de la enfermedad (Khan y Bolton, 2010). El control químico es inconveniente por su alta residualidad (Leadbeater y Gisi, 2010); por lo cual, se han investigado alternativas para el control de *R. solani*, entre las que se cuenta el control biológico.

El efecto antagónico de algunas especies de *Trichoderma* sobre *R. solani* fue descrito en 1932 (Weindling, 1932). Actualmente se utiliza para proteger a la planta de patógenos de la raíz y para estimular sus mecanismos de defensa (Korolev *et al.*, 2008). *Trichoderma* parasita y elimina un amplio número de hongos que afectan a las plantas de interés agrícola (Romero-Arenas *et al.*, 2017). El éxito y su empleo en la agricultura se debe a sus mecanismos de acción (Infante y Martínez, 2019).

El uso agrícola de especies de *Trichoderma*, es una alternativa tecnológica para la obtención de biofungicidas de alta calidad (Hernández-Mendoza *et al.*, 2012; Companioni *et al.*, 2019), que, a pesar de su potencial, su aplicación en México para el manejo de enfermedades en papa, ha sido escaso y los problemas con *R. solani* siguen vigentes. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar *in*

(Romero-Arenas *et al.*, 2017). Its agricultural success and use stems from its diverse mechanisms of action (Infante and Martínez, 2019).

The agricultural utilization of *Trichoderma* species represents a promising technological approach for producing high-quality biofungicides (Hernández-Mendoza *et al.*, 2012; Companioni *et al.*, 2019). Despite its considerable potential, the application of *Trichoderma* based solutions for disease management in potatoes remains limited in Mexico, and challenges associated with addressing *Rhizoctonia solani* infections persist. Thus, the primary aim of this study was to conduct an *in vitro* assessment of the efficacy of four distinct *Trichoderma* species as potential biofungicides targeting *Rhizoctonia solani*.

In this research, isolates of *T. viride* (*Tv*), *T. koningii* (*Tk*), *T. harzianum* (*Th*), and *Trichoderma* spp. (*Tspp.*) employed, isolates were obtained from the collection maintained by the Universidad Tecnológica del Sur in Morelos. Concurrently, the *R. solani* strain was procured from the Zacatepec Experimental Station of the National Institute of Forestry, Agriculture, and Livestock Research (INIFAP). The isolation of *R. solani* involved obtaining samples from infected potato plants of Fiana variety from Toluca, Mexico state. Subsequent to carefully rinsing the plants to eliminate soil residues through flowing water, symptomatic one squared centimeter sections from various plant segments were disinfected utilizing 3% sodium hypochlorite for 5 min., followed by rinsing with sterile distilled water. These sections were plated on Petri dishes with Sabouraud dextrose agar culture medium (MCD LAB) and subjected to an incubation period of 25 ± 2 °C for 48 hrs. Establishment of pure cultures were achieved by inoculating Petri dishes with hyphal tips possessing characteristics and morphology indicative of *R. solani*. Both *Trichoderma* species

in vitro la efectividad biológica de cuatro especies de *Trichoderma* como potenciales biofungicidas contra *Rhizoctonia solani*.

Se utilizaron aislamientos de *T. viridie* (*Tv*), *T. koniingii* (*Tk*), *T. harzanium* (*Th*) y *Trichoderma* spp. (*Tspp.*), procedentes del cepario de la Universidad Tecnológica del Sur del estado de Morelos. El aislamiento de *R. solani*, lo aportó el Campo Experimental Zacatepec, del INIFAP. Para el aislado de *R. solani*, se tomaron muestras infectadas por el hongo en el cultivo de la papa variedad Fiana proveniente de Toluca, Estado de México. Las plantas fueron lavadas con agua corriente para retirar el exceso de tierra; posteriormente, secciones con síntomas de un centimetro de diferentes partes de la planta fueron desinfestadas con hipoclorito de sodio al 3% durante 5 min y después enjuagadas con agua destilada estéril. Después se sembraron en cajas Petri con medio de cultivo agar dextrosa Sabouraud (MCD LAB) y se incubaron a 25 ± 2 °C durante 48 h. Se obtuvieron cultivos puros mediante la siembra de puntas de hifa con características y morfología de *R. solani*. Los aislamientos de *Trichoderma* y *R. solani* aquí descritos se encuentran acualmente en proceso de identificación molecular.

Para las evaluaciones, los hongos se mantuvieron en medio agar dextrosa Sabouraud a una temperatura de 25 ± 2 °C por 96 h (*Trichoderma*) y por 10 días (*R. solani*).

La competencia por espacio entre las especies de *Trichoderma* y *R. solani*, se evaluó utilizando el método de confrontación dual Bell *et al.* (1982), descrito por Martínez y Solano (1994). La evaluación se realizó en cajas Petri de 90 mm de diámetro, con medio agar dextrosa Sabouraud. Se sembraron individualmente discos de 5 mm de agar con micelio de *Tv*, *Tk*, *Th* y *Tspp.* a un centímetro del borde de cada caja Petri (réplica) y en el otro extremo un disco de 5 mm con crecimiento de *R. solani*. Como control se sembró *R. solani* sin presencia de

and *R. solani* isolates described in this study are currently undergoing molecular identification procedures.

For evaluations, fungi were cultivated on Sabouraud dextrose agar medium at controlled temperature of 25 ± 2 °C for 96 hrs (*Trichoderma* species) and for 10 days (*R. solani*).

Competition for resources between *Trichoderma* species and *R. solani* were evaluated using the dual confrontation method as outlined by Bell *et al.* (1982) and detailed by Martínez and Solano (1994). Evaluation were conducted in 90 mm diameter Petri dishes containing Sabouraud dextrose agar medium. Individual 5 mm agar disks harboring mycelium of *Tv*, *Tk*, *Th*, and *Tspp.* were positioned one centimeter from the edge of each Petri dish (replicate), with a 5 mm disk of *R. solani* growth positioned at the opposing end. In parallel, a control experiment featuring *R. solani* growth without of *Trichoderma* species were conducted employing a completely randomized design, five treatments, with five replicates (Petri dishes), were evaluated. Radial growth measurements during confrontations were taken at 24-hr intervals, up to 120 hrs, within a controlled environment of 25 ± 2 °C.

Classification of *Tv*, *Tk*, *Th*, and *Tspp.* isolates as antagonists against *R. solani* was executed using the five class scale introduced by Bell *et al.* (1982). Percentage Inhibition of Radial Growth Rate (PIRGR) was calculated using the formula $PIRGR = (R1 - R2) / R1 \times 100$, where R1 represents the radial growth of the phytopathogen colony within the control treatment, and R2 signifies the radial growth of the pathogenic isolate when confronted by the antagonist (Rahman *et al.*, 2009). Statistical analysis of PIRGR data were performed employing IBM SPSS® Statistics for Windows version 25 (IBM Corp, Armonk, New York, USA). Prior to analysis, normality and homogeneity of variance were assessed using the Levene and Kolmogorov-

Trichoderma. Se evaluaron cinco tratamientos con cinco repeticiones (cajas Petri) en un diseño completamente al azar. Las mediciones de crecimiento radial en confrontación se realizaron cada 24 h, hasta las 120 h a una temperatura de 25 ± 2 °C.

La clasificación como antagonistas de los aislamientos *Tv*, *Tk*, *Th* y *Tspp.* frente a *R. solani* se realizó según la escala de cinco clases propuesta por Bell *et al.* (1982). El Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) se determinó con la fórmula $PCIR = (R1 - R2) / R1 \times 100$; donde R1 es el crecimiento radial de la colonia del fitopatógeno en el tratamiento control y R2 el crecimiento radial del aislamiento patógeno enfrentado al antagonista (Rahman *et al.*, 2009). Los análisis estadísticos del PICR se realizaron con el software estadístico IBM SPSS® Statistics para Windows vs 25 (IBM Corp, Armonk, Nueva York, USA). Se comprobó la normalidad y homogeneidad de varianza mediante el test de Levene y Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente, se procedió al análisis de varianza y a la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,01$).

El micoparasitismo se observó en la zona de contacto entre ambos hongos (antagonista-patógeno) y se evaluó el tipo de interacción hifal (enrollamiento, penetración, vacuolización y lisis) (Chet *et al.*, 1981). Para ello, se tomaron muestras con cinta adhesiva de la zona de interacción y después se colocaron en un portaobjeto con una gota de azul de lactofenol. Las muestras se observaron a 40X en un microscopio óptico (LABOMED, modelo CXL TRINOCULAR 9135007). Se realizaron tres preparaciones por réplica (caja Petri).

Los cuatro aislamientos de *Trichoderma* evaluados se ubicaron en la clase 2 de antagonismo de la escala de Bell *et al.* (1982) (Figura 1), con un crecimiento de más del 60% de la superficie sobre *R. solani*. Utilizando la misma escala, las evaluaciones *in vitro* de Pérez *et al.* (2020) mostraron que

Smirnov tests. Subsequently, an analysis of variance and Tukey's mean comparison test ($p \leq 0.01$) was executed.

Mycoparasitism was observed in the contact zone between the two fungi (antagonist pathogen), and the array of hyphal interactions; rolling, penetration, vacuolization, and lysis were assessed in accordance with the methodology outlined by Chet *et al.* (1981). To conduct this analysis, adhesive tape was utilized to obtain samples from the interaction zone, which were subsequently mounted on slides with a drop of lactophenol blue. Examination of samples were carried out under an optical microscope (LABOMED, model CXL TRINOCULAR 9135007) at 40X magnification. Each replicate (Petri dish) encompassed three distinct preparations.

The four *Trichoderma* isolates subjected to evaluation were classified within antagonism class 2 of the scale established by Bell *et al.* (1982) (Figure 1). Their growth encompassed more than 60% of the surface area occupied by *R. solani*. By applying the same scale, *in vitro* assessments conducted by Pérez *et al.* (2020) demonstrated that *T. atroviride*, *T. konigiopsis*, and *T. harzianum* exhibited an overgrowth exceeding 85% over *R. solani*, warranting their classification within antagonism class 1. Likewise, when assayed against *Botrytis* sp., strains of *T. koningii*, *T. atroviride*, *T. inhamatum*, and *T. harzianum* were classified as belonging to class 1 (Acosta *et al.*, 2021), a classification shared by *T. asperellum* and *Trichoderma* spp. in relation to *B. cinerea* (Pincay *et al.*, 2021).

The antagonistic interaction between fungi is mediated through an intricate network of attack and counter-response mechanisms. Within the arsenal of attack strategies employed by *Trichoderma* species, a diverse array is noteworthy, including parasitism, antibiosis, competition for resources and space,

T. atroviride, *T. konigiopsis* y *T. harzianum* presentaron un sobre crecimiento mayor a 85% por encima de *R. solani*, clasificándolas en la clase 1 de antagonismo. Asimismo, frente a *Botrytis* sp. las cepas de *T. koningii*, *T. atroviride*, *T. inhamatum* y *T. harzianum* se clasificaron en la clase 1 (Acosta *et al.*, 2021), al igual que *T. asperellum* y *Trichoderma* spp. contra *B. cinerea* (Pincay *et al.*, 2021). El antagonismo entre hongos esta mediado por una serie de mecanismos de ataque y respuesta entre el biocontrolador y el patógeno. *Trichoderma*, posee una gran variedad de mecanismos de ataque; entre los más conocidos se encuentran el parasitismo, la antibiosis, la competencia por nutrientes y espacio, la liberación de enzimas que afectan el metabolismo de otros microorganismos, la activación de repuesta de defensa, la estimulación de la germinación y crecimiento (Morales-Mora *et al.*, 2020).

Todos los tratamientos mostraron un efecto antagónico superior al 50% a partir de las 96 h (Cuadro 1), observándose crecimiento sobre la colonia de *R. solani* (Figura 1). A las 120 h *Tk*, *Th* y *Tspp.* mostraron los mayores porcentajes de inhibición, todos con diferencias significativas en sus valores promedio ($p \leq 0,01$). Los resultados muestran que estos presentan mayor velocidad de crecimiento a partir de las 72 h, por posibles metabolitos desprendidos por *R. solani* (Cuadro 1).

En otros ensayos *in vitro*, especies de *Trichoderma* mostraron una inhibición con *Trichothecium* sp., *Cladosporium* sp. y *Fusarium* sp. mayor al 50%; frente a *Didymella bryoniae* del 75% (Martínez *et al.*, 2013). El uso de *Trichoderma* spp. cepa nativa TC05, en condiciones *in vitro* y en casa de malla demostró un alto potencial antagónico frente a *Fusarium* spp. (Rodríguez-Pinto *et al.*, 2021). Establecer *in vitro* los mecanismos de acción presentes en los aislamientos de antagonistas, constituye la base de la selección de estos, no solo para las pruebas siguientes en condiciones semicontroladas

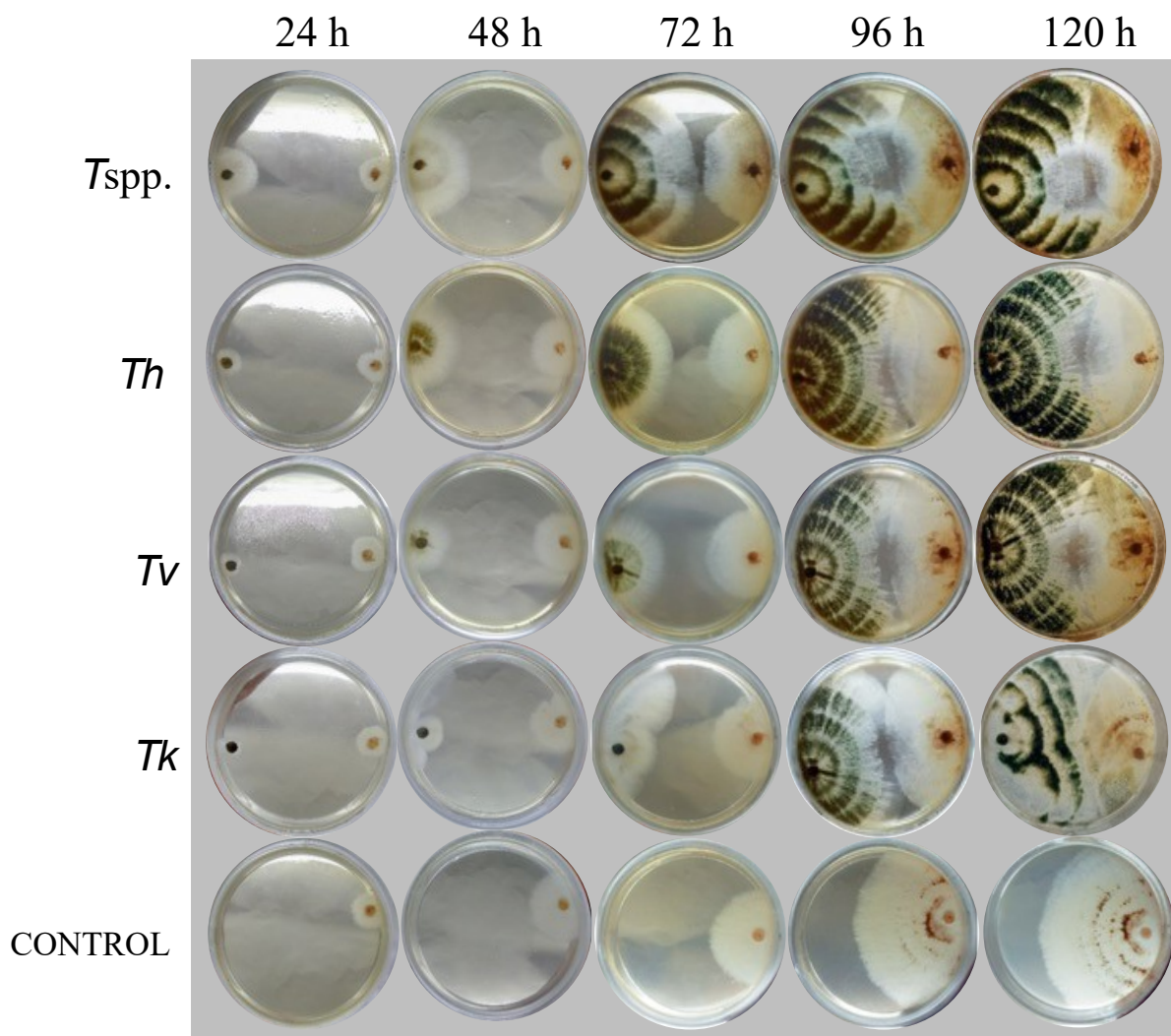


Figure 1. Confrontation of *Trichoderma* isolates with *R. solani* were carried out on Sabouraud agar, followed by the assessment of *R. solani*'s radial growth inhibition at 24 hr intervals. The used abbreviations were as follows: *Tspp.* (*Trichoderma* spp.), *Th* (*T. harzianum*), *Tv* (*T. viride*), *Tk* (*T. koningii*), with the control group represented by *R. solani*.

Figura 1. Confrontación de aislamientos de *Trichoderma* frente a *R. solani* en agar Sabouraud y evaluación de la inhibición del crecimiento radial de *R. solani* cada 24 h. *Tspp.*: *Trichoderma* spp., *Th*: *T. harzianum*, *Tv*: *T. viridie*, *Tk*: *T. koningii*, control: *R. solani*.

enzymatic disruption of other microorganisms metabolisms, elicitation of defense responses, and facilitation of germination and growth (Morales-Mora *et al.*, 2020).

All treatments exhibited an antagonistic effect exceeding 50% after 96 hrs, as indicated in Table 1. Growth of *R. solani* colony displayed noticeable changes, as illustrated in Figure 1. At 120 hrs, *Tk*, *Th*,

y campo, sino que orientan la forma de producción que debe establecerse para lograr mayor estabilidad y eficacia en los resultados en campo.

En la Figura 2 se muestra la zona de confrontación entre *Th* y *R. solani* donde al igual que *Tspp.* se observaron cuatro tipos de interacción hifal con enrollamiento, penetración, vacuolización y lisis de hifas; mientras que *Tv* y *Tk* presentaron dos y

**Table 1. Radial Growth Inhibition (RIGI) of *Trichoderma* on *R. solani*.
 Cuadro 1. Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) de *Trichoderma* sobre *R. solani*.**

Treatments	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
<i>Tspp.</i>	17.8 c	26.2 c	32.7 c	55.1 c	65.5 c
<i>Th</i>	22.2 b	27.9 b	36.3 b	57.3 b	66.7 b
<i>Tv</i>	11.1 d	20.5 d	29.8 d	50.4 d	57.0 d
<i>Tk</i>	24.4 a	31.2 a	43.3 a	61.2 a	67.5 a
Es χ	1.31*	1.0*	1.3*	1.0*	1.08*
CV (%)	27.76	15.12	14.66	7.17	6.74

Tspp. = *Trichoderma* spp.; *Th* = *T. harzianum*; *Tv* = *T. viride*; *Tk* = *T. koningii*; Es χ = standard error of the mean; CV = coefficient of variation. Different letters in the same column indicate significant differences according to Tukey's multiple range test ($p \leq 0.01$). / *Tspp.* = *Trichoderma* spp.; *Th* = *T. harzianum*; *Tv* = *T. viridie*; *Tk* = *T. koningii*; Es χ = error estándar de la media; CV = Coeficiente de variación. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0,01$).

and *Tspp.*, treatments showed the most substantial inhibition percentages. Notably, all three treatments exhibited statistically significant differences in their mean values ($p \leq 0.01$). Furthermore, data revealed that after 72 hrs, treatments demonstrated an increased growth rate. This phenomenon could be attributed to potential metabolites released by *R. solani*, as detailed in Table 1.

Other *in vitro* assessments, *Trichoderma* spp. exhibited inhibition rates exceeding 50% against *Trichothecium* sp., *Cladosporium* sp., and *Fusarium* sp.; meanwhile, it demonstrated a remarkable 75% inhibition against *Didymella bryoniae* (Martínez *et al.*, 2013). Using the native strain TC05 of *Trichoderma* spp., both under *in vitro* conditions and within a mesh house, revealed a substantial antagonistic potential against *Fusarium* spp. (Rodríguez-Pinto *et al.*, 2021). Elucidation of underlying mechanisms of action exhibited by these antagonist isolates *in vitro* forms the foundation for their selection. This selection process pertains not only to subsequent assessments under semi-controlled and field conditions but also guides the formulation of production strategies aimed at achieving enhanced stability and efficacy in field results.

tres tipos de interacción; respectivamente, siendo el enrollamiento y la penetración de hifas las estrategias de micoparasitismo utilizadas por todos los aislamientos de *Trichoderma* evaluados (Cuadro 2). Se ha descrito que la combinación de diferentes formas de micoparasitismo, favorece la acción de biocontrol sobre el fitopatógeno (Companiononi *et al.*, 2019).

Las especies de *Trichoderma* producen enzimas tales como β -1,3-glucanasas, β -1,6-glucanasas, quitinasas y proteasas, capaces de hidrolizar la pared celular de numerosos hongos (Ait-Lahsen *et al.*, 2001). Durante este proceso, las hifas de *Trichoderma* crecen quimiotrópicamente hacia el huésped, una vez cerca del patógeno, comienza su adhesión y enrollamiento para finalizar con la actividad lítica.

Los resultados obtenidos en la confrontación dual de *T. harzianum* y *T. koningii* contra *R. solani*, mostraron altos porcentajes de inhibición del crecimiento radial. Así como, *T. harzianum* y *Trichoderma* spp. presentaron cuatro tipos de interacción hifal con el patógeno y todas las especies evaluadas se ubicaron en la clase 2 de la escala de Bell *et al.* (1982).

Figure 2, shows the confrontation zone between *Th* and *R. solani*, where similar to *Tspp.*, four distinct types of hyphal interactions were observed, encompassing coiling, penetration, vacuolization, and lysis of hyphae. Meanwhile, *Tv* and *Tk* exhibited two and three types of interactions, respectively. On the other hand, coiling and hyphal penetration emerged as the predominant mycoparasitic

Todos aislados de *Trichoderma* mostraron niveles similares de antagonismo frente a *R. solani*; sin embargo, establecer *in vitro* la interacción con otras cepas de *R. solani*, diferentes hongos fitopatógenos y en los cultivos de origen ayudaría a la selección de especies de *Trichoderma* con las mejores características de parasitismo y control.

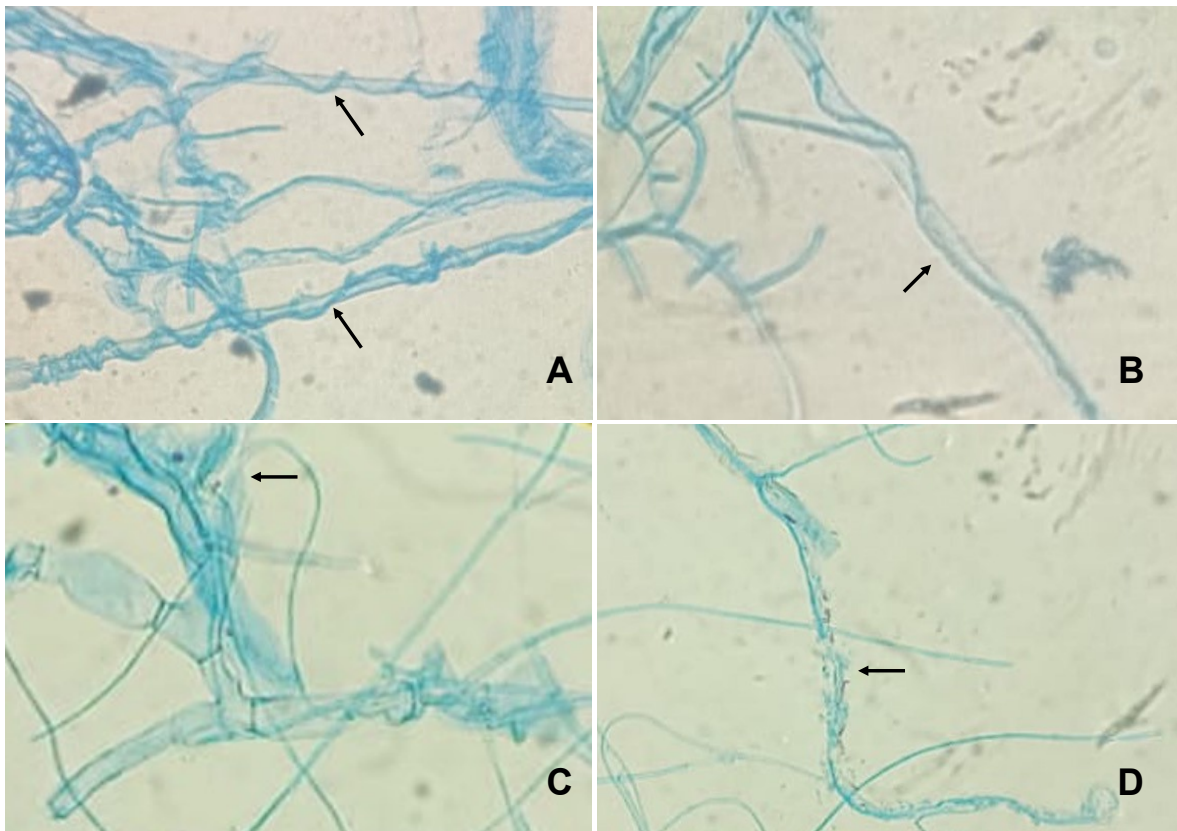


Figure 2. Mechanisms of antagonistic action of *T. harzianum* on *R. solani*: coiling (A), penetration (B), vacuolization (C) and lysis (D).

Figura 2. Mecanismos de acción antagonica de *T. harzianum* sobre *R. solani*: enrollamiento (A), penetración (B), vacuolización (C) y lisis (D).

strategies employed by all evaluated *Trichoderma* isolates (Table 2). Literature has documented that the amalgamation of diverse mycoparasitic tactics

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~~



**Table 2. Types of hyphal interaction between *Trichoderma* isolates and *R. solani*.  
 Cuadro 2. Tipos de interacción hifal entre aislados de *Trichoderma* y *R. solani*.**

| Treatments                               | Hyphal interaction type |
|------------------------------------------|-------------------------|
| <i>Trichoderma</i> spp. ( <i>T</i> spp.) | E-P-L-V                 |
| <i>T. harzianum</i> ( <i>Th</i> )        | E-P-L-V                 |
| <i>T. viridie</i> ( <i>Tv</i> )          | E-P                     |
| <i>T. koningii</i> ( <i>Tk</i> )         | E-P-L                   |

Coiling (E), Penetration (P), vacuolization (V) and Lysis (L). / Leyenda: Enrollamiento (E), Penetración (P), Vacuolización (V) y Lisis (L).

contributes to a more effective biocontrol action against phytopathogens (Companiononi *et al.*, 2019).

*Trichoderma* species produce enzymes, including  $\beta$ -1,3-glucanases,  $\beta$ -1,6-glucanases, chitinases, and proteases, capable of breaking down cell walls of various fungi (Ait-Lahsen *et al.*, 2001). In this process, *Trichoderma* species hyphae exhibit chemotropic growth towards the host. When in close proximity to the pathogen, their attachment and coiling initiate, ultimately leading to lytic activity.

Results from dual confrontation of *T. harzianum* and *T. koningii* with *R. solani* revealed significant radial growth inhibition rates. Correspondingly, both *T. harzianum* and *Trichoderma* spp. displayed four distinct types of hyphal interactions with the pathogen. Furthermore, all assessed species were categorized under class 2 on the Bell *et al.* scale (1982).

While all *Trichoderma* isolates exhibited comparable levels of antagonism against *R. solani*, exploring *in vitro* interactions with diverse *R. solani* strains, varying phytopathogenic fungi, and the original crop environments could aid in selecting *Trichoderma* species showcasing optimal parasitic and control characteristics.

## CITED LITERATURE

- Acosta LT, Azania KD and Azania R. 2021. Cultivo dual *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a *Botrytis* spp. patógeno de *Passiflora ligularis* Juss. Agropecuaria Science and Biotechnology 1: 43-55. <http://revistas.untrm.edu.pe/index.php/RIAGROP/article/view/720/1022>.
- Ait-Lahsen H, Soler A, Rey M, De La Cruz J, Monte E and Llobell A. 2001. An antifungal exo-alpha-1,3-glucanase (AGN13.1) from the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology 67: 5833–5839. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.12.5833-5839.2001>.
- Alburqueque DA y Gusqui RM. 2018. Eficacia de fungicidas químicos para el control *in vitro* de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. Araldoa 25: 489-498. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.252.25209>.
- Bell DK, Wells HD and Markham CR. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against six fungal pathogens. Phytopathology 72: 379-382. [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1982Articles/Phyto72n04\\_379](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1982Articles/Phyto72n04_379). PDF.
- Betancourth CA, Sañudo BA, Flórez CA y Salazar CE. 2021. Manejo de la costra negra de la papa (*Rhizoctonia solani*) con el establecimiento de abonos verdes. Información Tecnológica 32: 165-174. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642021000200165>.
- Chet I, Harman GE and Baker R. 1981. *Trichoderma hamatum*: its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. Microbial Ecology 7: 29-38. <https://doi.org/10.1007/BF02010476>.
- Companiononi GB, Domínguez AG y García VR. 2019. *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. Biotecnología Vegetal 19: 237-248. <http://scielo.sld.cu/pdf/bvg/v19n4/2074-8647-bvg-19-04-237.pdf>.

- DGSV-CNRF. 2020. Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Pudrición de la raíz, *Rhizoctonia solani*. Sader-Senasica. Ficha técnica. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600968/Pudrición de la raíz.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600968/Pudrición_de_la_raíz.pdf).
- FAO, Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2016. Producción agrícola, Hortalizas. <https://bit.ly/2LIKZxh> (consulta, octubre 2021).
- Hernández-Mendoza JL, Quiroz-Velázquez JD, Díaz-Franco A, García-Olivares JG, Bustamante-Dávila AJ and Gill-Langarica HR. 2012. Detection of metabolites in Flor de Mayo common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their response to inoculation with *Trichoderma harzianum*. African Journal of Biotechnology 11: 11767-11771. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/129007>.
- Infante MD y Martínez CB. 2019. Actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre aislados de diferentes grupos anastomóticos de *Rhizoctonia solani* Kühn. Revista de Protección Vegetal 34: 1-7. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522019000200008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522019000200008).
- Khan MFR and Bolton M. 2010. Management of *Rhizoctonia* root and crown rot of sugar beet. Plant Disease Management NDSU extension service. North Dakota State University. <https://www.ag.ndsu.edu/publications/crops/management-of-rhizoctonia-root-and-crown-rot-of-sugar-beets>.
- Korolev N, Rav DD and Elad Y. 2008. The role of phytohormones in basal resistance and *Trichoderma*-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*. BioControl 53: 667-683. <https://doi.org/10.1007/s10526-007-9103-3>.
- Leadbeater A and Gisi U. 2010. The challenges of chemical control of plant diseases. In: Gisi U, Chet I, Gullino ML (eds.) Recent developments in management of plant diseases. Dordrecht: Springer. 3-17. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8804-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8804-9_1).
- Martínez B, Pérez J, Infante D, Duarte Y y Moreno M. 2013. Antagonismo de aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm. Protección Vegetal 28: 192-198. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n3/rpv05313.pdf>.
- Martínez B. y Solano T. 1994. Antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria solani* (Ellis y Martin) Jones y Grout. Protección Vegetal.10:221-225.
- Morales-Mora LA, Andrade-Hoyos P, Valencia-de Ita MA, Romero-Arenas O, Silva-Rojas HV y Contreras-Paredes CA. 2020. Caracterización de hongos asociados al cultivo de fresa y efecto antagonista *in vitro* de *Trichoderma harzianum*. Revista Mexicana de Fitopatología 38: 434-449. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2005-7>.
- Pérez AA, Pérez MA, Martínez CB, Rollhaiser IN y Blengini MC. 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. <https://doi.org/10.31047/1668.298x.v37.n2.29419>.
- Pincay A, Noboa M, Viera W, Herrera K, León A y Jackson T. 2021. Evaluación *in vitro* del potencial antagonista de *Trichoderma* spp. y hongos endófitos de mora (*Rubus glaucus* Benth) para el control de *Botrytis cinerea*. Journal of Science and Research: Revista Ciencia e Investigación 6: 109-124. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8023668>.
- Rahman MA, Begum MF and Alam MF. (2009). Screening of *Trichoderma* isolates as a biological control agent against *Ceratocystis paradoxa* causing pineapple disease of sugarcane. Mycobiology 37(4): 277-285. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2009.37.4.277>.
- Rodríguez-Pinto ML, Campo-Arana RO, Cardona-Ayala CE, Manjarres-Cogollo EE y Rossi-Tordecilla BJ. 2021. *Trichoderma* spp. biocontrolador de marchitez vascular (*Fusarium* spp.) de la berenjena en el Caribe colombiano. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial 19:158-169. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1847>.
- Romero-Arenas O, Amaro JL, Damián MA, Valencia de Ita MA, Rivera A y Huerta M. 2017. Bio-preparados de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Phytophthora capsici* en el cultivo de tomate de Puebla, México. ITEA 113: 313-324. <http://doi.org/10.12706/itea.2017.019>.
- Weindling R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology 22: 837-845. <https://eurekamag.com/research/013/594/013594922.php>.