



Nota Fitopatológica

## Antagonismo *in vitro* de *Clonostachys* sp. contra hongos asociados a enfermedades en cultivos de importancia económica

María Emilia Belingheri Lagunes, Doctorado en Micología Aplicada, Rosario Medel-Ortiz\*, Alejandro Salinas-Castro, Centro de Investigación en Micología Aplicada, Universidad Veracruzana, Médicos No. 5, Xalapa, 91010; Dora Trejo Aguilar Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Veracruzana, Zona Universitaria, s/n, Xalapa, 91000.

### RESUMEN

**Objetivos/Antecedentes.** El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antagonista *in vitro* de una cepa de *Clonostachys* sp., contra cinco especies de hongos asociados a enfermedades en cultivos de importancia económica.

**Materiales y Métodos.** Se probaron cinco especies de hongos asociados a enfermedades de cultivos: *Alternaria alternata*, *Colletotrichum kahawae*, *C. musae*, *Fusarium oxysporum* y *F. solani*. Se realizaron cultivos duales con cinco repeticiones más los controles. Se registró el crecimiento cada 24 horas, hasta completar 360 horas. Se determinaron las interacciones, el grado de antagonismo y se calculó el porcentaje de colonización. Los análisis estadísticos se realizaron con un modelo lineal generalizado (GLM).

**Resultados.** Todas las especies evaluadas mostraron antagonismo del tipo sobrecrecimiento. El grado de antagonismo se clasificó en tres clases, siendo la clase dos la que se presentó en tres de las especies. El porcentaje de colonización fue del 100 % a las 216 h en tres de las especies y de 264 h para las otras dos. No hubo diferencias significativas en el porcentaje de colonización ( $p = 0.0073$ ), pero sí en el tiempo de invasión ( $p < 0.0001$ ).

**Conclusión.** Los ensayos duales para comprobar el efecto antagonista *in vitro* constituyen la base para la selección de candidatos para el control biológico de hongos.

**Palabras clave:** antagonismo, control biológico, micoparásitos.

\*Autor de  
correspondencia:  
Rosario Medel-Ortiz  
romedel@uv.mx

Sección:  
Edición periódica

Recibido:  
15 Enero, 2024

Aceptado:  
18 Enero, 2024

Publicado:  
07 Junio, 2024

Cita:  
Belingheri LME, Medel-Ortiz R, Salinas-Castro A y Trejo AD. 2024. Antagonismo *in vitro* de *Clonostachys* sp. contra hongos asociados a enfermedades en cultivos de importancia económica. Revista Mexicana de Fitopatología 42(3): 23 <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2401-1>



## INTRODUCCIÓN

El género *Clonostachys*, comprende hongos con diversos estilos de vida, incluyendo micoparásitos destructivos, que son utilizados como agentes de biocontrol de hongos patógenos de plantas y también especies con otro tipo de asociaciones ecológicas (Schroer, 2001); pocos estudios relacionados con este género se han publicado en México, aun así recientemente se citó a *Clonostachys rosea* parasitando aguacate en Puebla (Cóyotl-Pérez *et al.*, 2022) y a *C. chloroleuca* causando marchitez de garbanzo (*Cicer arietinum*) en Sinaloa y Baja California (Cota-Barreras *et al.*, 2022). De las especies micoparásitas, la más estudiada y utilizada como agente de control biológico es *Clonostachys rosea* (Funck y Dubey, 2022), la cual actúa contra numerosos patógenos de plantas como géneros de *Alternaria*, *Botrytis*, *Bipolaris*, *Drechslera*, *Moniliophthora*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Rhynchosporium* y *Sclerotinia* (Sun *et al.*, 2020). Como una de las alternativas para el control de enfermedades causadas por fitopatógenos, está el uso de biocontroles, mismos que se sustentan en la capacidad de ciertos grupos de hongos para inhibir el crecimiento de otros, mediante enzimas hidrolíticas como quitinasas y glucanasas, lo cual les confiere una ventaja distintiva al permitirles dirigirse hacia las hifas de otros hongos, logrando degradar de manera efectiva las paredes celulares (Moore *et al.*, 2020). Debido a esto las investigaciones sobre este grupo de hongos son importantes para descubrir nuevas posibilidades de control biológico.

En *Clonostachys* se han reportado 11 especies micoparásitas (Schroers, 2001). A la fecha no se tiene reporte de *Clonostachys* como micoparásito en Veracruz por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar *in vitro* el grado de antagonismo de una cepa de *Clonostachys* sp. aislada frente a cinco cepas de hongos fitopatógenos: *Alternaria alternata*, *Colletotrichum musae*, *C. kahawae*, *Fusarium oxysporum* y *F. solani*.

*Clonostachys* fue aislada (Senanayake *et al.* 2020) como un micoparásito de un ascomiceto (*Lachnum petridophyllum*) habitante del bosque mesófilo de Veracruz. Para el aislamiento se utilizó medio PDA (MCD LAB), se incubó cinco días a 26 °C. La cepa está depositada en el cepario del Centro de Investigación en Micología Aplicada (CIMA) de la Universidad Veracruzana bajo la clave CIMA-F-168. La cepa fue revisada al microscopio compuesto Primo Star Iled (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemania) y se midieron los conidióforos primarios y secundarios (Schroers *et al.*, 2001). Dado que la cepa posee características morfológicas que no corresponden con ninguna de las especies micoparásitas citadas de *Clonostachys*, actualmente se encuentra en proceso de identificación molecular.

De acuerdo con Comporota (1985), la primera fase para seleccionar una cepa con potencial biocontrol, es evaluar la capacidad para invadir otros hongos. Para corroborar esto se seleccionaron cinco especies de hongos asociados a enfermeda-

des en cultivos previamente estudiados: *Alternaria alternata* (CIMA- F-056; Trigos *et al.*, 2008); *Colletotrichum kahawae* (CIMA- F-078; aislada por A. Salinas de la finca de café Bola de Oro, Coatepec, Veracruz); *Colletotrichum musae* (CIMA- F-012; donada por COLPOS); *Fusarium oxysporum* (CIMA-F-068; Adame *et al.*, 2015); *F. solani* (CIMA-F-127; Lagunes *et al.*, 2015), todas ellas depositadas en el cepario del CIMA-UV. Las cepas fueron sembradas en medio PDA y se incubaron en una estufa de cultivo (BG- E-71) a 26 °C por siete días.

La actividad antagonica se evaluó mediante cultivos duales, colocando dos discos de 4 mm de diámetro en cajas Petri de 90 mm con medio PDA. De un lado se colocó un disco de PDA con crecimiento micelial de *Clonostachys* sp. y del otro lado el hongo asociado a cultivos. La distancia de separación entre discos fue de 50 mm y 15 mm separados del margen de la caja. Se hicieron cinco repeticiones para cada ensayo de confrontación.

Como control, se sembraron cada uno de los hongos evaluados sin la presencia de *Clonostachys* sp., y la cepa de *Clonostachys* sp. sin presencia de otros hongos. Tanto los controles como los cultivos duales, se incubaron a 26 °C. Cada 24 h se tomaron medidas del crecimiento (milímetros) de ambos hongos en confrontación y del control hasta completar 360 horas (15 días).

Se observó y describió la interacción entre los hongos *in vitro*, con especial atención a la producción de estructuras reproductoras, pigmentación y morfología del micelio. El grado de antagonismo (Cuadro 1) se determinó con la escala de Bell *et al.* (1980).

**Cuadro 1.** Escala cualitativa del grado de antagonismo de *Clonostachys* sp. y los hongos asociados a enfermedades evaluados.\*

Grado	Capacidad antagonica
1	<i>Clonostachys</i> superó al hongo y cubrió toda la superficie del medio.
2	<i>Clonostachys</i> superó al menos 2/3 de la superficie del medio.
3	<i>Clonostachys</i> y el hongo colonizaron cada uno aproximadamente la mitad de la superficie del medio.
4	El hongo colonizó al menos 2/3 de la superficie del medio.
5	El hongo superó por completo a <i>Clonostachys</i> .

\*Modificado de Bell *et al.* (1980).

Con las medidas de crecimiento, se determinó el porcentaje de colonización siguiendo la fórmula de Camporota (1985):  $C = DT/DE/100$ , donde DT es la distancia recorrida por *Clonostachys* sp. sobre el eje que separa los puntos de siembra y DE es la distancia entre ambos (5 cm). Se consideró una colonización efectiva, cuando el porcentaje fue mayor al 50 % (Rollan *et al.*, 1999). Los análisis estadísticos se realizaron con el software R (R Core Team). Se comprobó la normalidad de los

datos con la prueba de Shapiro-Wilks. Posteriormente, se realizó un análisis GLM (modelo lineal generalizado).

La cepa en estudio presentó un comportamiento antagónico del tipo micoparásito contra las cinco especies de hongos evaluadas, de las cuales *Fusarium solani* corresponde a la clase 1, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum musae* y *C. kahawae* a la clase 2; y *Fusarium oxysporum* a la clase 3, según la escala propuesta en Cuadro 1. En ninguno de los casos se presentó un halo de inhibición, por lo que la interacción observada corresponde al tipo de “sobrecrecimiento”, de acuerdo con la clasificación de Bertrand *et al.* (2013).

El porcentaje de colonización de *Clonostachys* sp. fue del 100 % a las 216 h frente a *A. alternata*, *C. kahawae* y *F. solani*, mientras que en las especies *C. musae* y *F. oxysporum* fueron a las 264 horas en condiciones *in vitro* (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Porcentaje de crecimiento de *Clonostachys* sp. frente a los hongos.

Tiempo (horas)	Media <i>A. alternata</i> frente a <i>Clonostachys</i> sp.	Media del porcentaje de crecimiento de <i>Clonostachys</i> sp.
24	7.2-6.4	12.7
72	25.6-21.2	42.0
120	40.7-35.6	69.5
168	45.3-45.0	87.8
216	46.5-53.8	100
264	49.4-60.8	100
312	51.8-70.6	100
360	53.2-78.0	100

Tiempo (horas)	Media <i>C. kahawae</i> frente a <i>Clonostachys</i> sp.	Media del porcentaje de crecimiento de <i>Clonostachys</i> sp.
24	4.8-7.4	14.7
72	19.9-21.6	43.2
120	40.2-36.6	73.2
168	45.8-49.6	99.2
216	50-58.8	100
264	50-65.6	100
312	50-70.8	100
360	50-76.0	100

Tiempo (horas)	Media <i>C. musae</i> frente a <i>Clonostachys</i> sp.	Media del porcentaje de crecimiento de <i>Clonostachys</i> sp.
24	6.4-7.1	14.2
72	41.8-20.7	41.4
120	46.8-35.5	71.0
168	46.8-42.3	84.7
216	46.8-48.7	97.3
264	46.8-53.1	100
312	46.8-56.7	100
360	46.8-65.8	100

Cuadro 2. Continúa

Tiempo (horas)	Media <i>F. solani</i> frente a <i>Clonostachys</i> sp.	Media del porcentaje de crecimiento de <i>Clonostachys</i> sp.
24	4.5-7.4	14.7
72	15.2-21.0	42.0
120	23.2-36.6	73.2
168	30.7-45.0	90.0
216	33.3-52.8	100
264	34.0-59.4	100
312	34.9-69.2	100
360	34.9-75.0	100

Tiempo (horas)	Media <i>F. oxysporum</i> frente a <i>Clonostachys</i> sp.	Media del porcentaje de crecimiento de <i>Clonostachys</i> sp.
24	9.5-7.9	15.9
72	32.9-21.1	42.3
120	45-32.9	65.8
168	50-40.8	81.5
216	50-46.8	93.6
264	50-54.8	100
312	50-57.8	100
360	50-58.8	100

Aunque la colonización fue efectiva, no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de colonización entre los fitopatógenos evaluados ( $p=0.0073$ ). No obstante, el tiempo de invasión sí tuvo un efecto significativo en el porcentaje de colonización para cada hongo, como lo indica el valor de  $p < 0.0001$  obtenido en el análisis GLM.

Por otra parte, los hongos evaluados exhiben distintas tasas de crecimiento y características particulares, por ejemplo, en el caso de *Alternaria alternata* (Figura 1) a las 168 horas, produjo un pigmento color amarillo brillante en el medio de cultivo

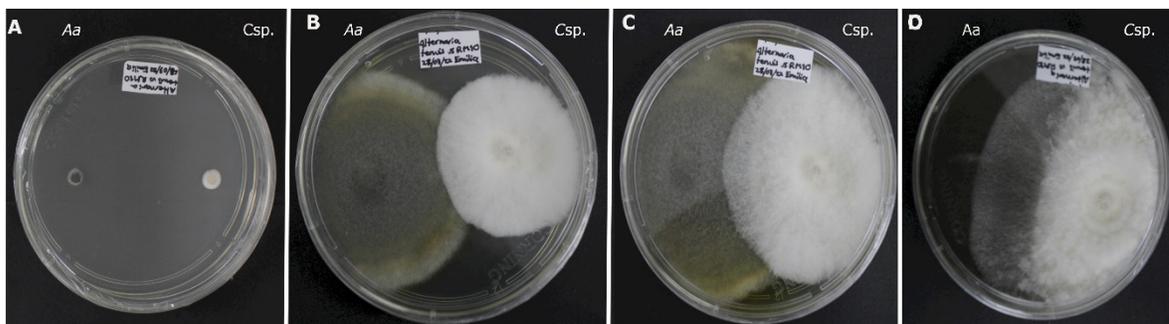
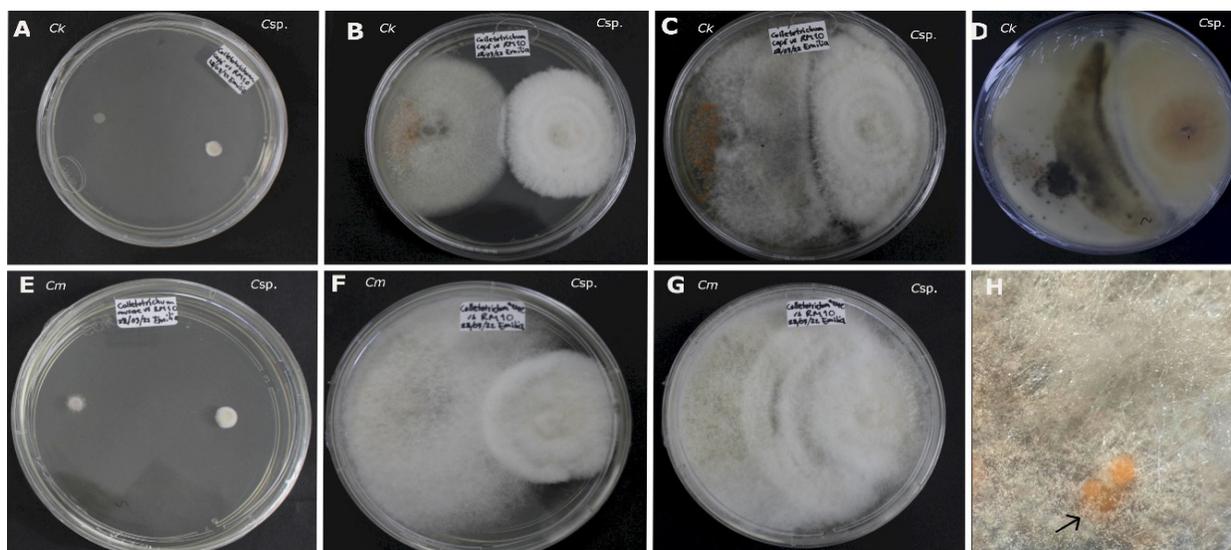


Figura 1. Antagonismo *in vitro* de *Clonostachys* sp. (Csp.) contra *Alternaria alternata* (Aa). A: 24 horas de la evaluación. B: 120 horas de evaluación. C: 216 horas de evaluación. D: día 15 de evaluación.

que se intensificó a naranja. De acuerdo con Scott y Stoltz (1980), los pigmentos amarillos difusos en el medio se relacionan con la producción de toxinas como la altertoxina II en *A. alternata*.

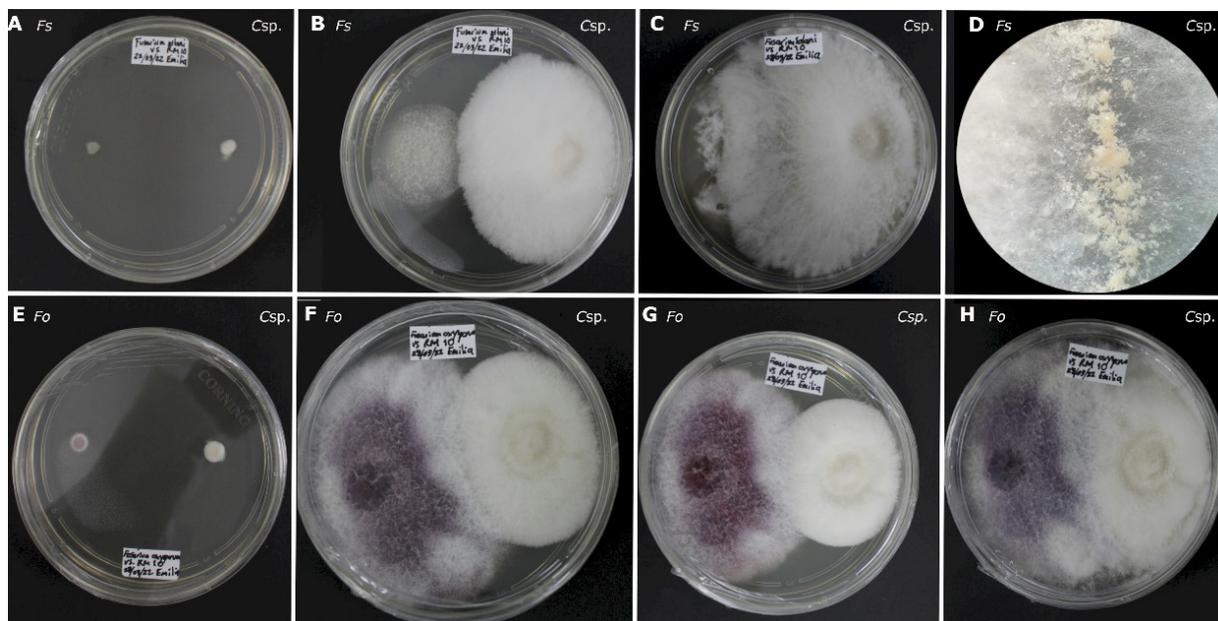
A las 144 horas en *C. kahawae* se apreció una pigmentación de color marrón en el centro de la colonia, esta se intensificó a medida que el antagonista crecía sobre hongo (Figura 2). Así mismo, durante la interacción entre *Clonostachys* sp. frente a *C. musae* se observó el crecimiento del antagonista sobre los acérvulos producidos por *C. musae* (Figura 2). Este proceso es de suma importancia, ya que puede contribuir significativamente a la interrupción del ciclo del patógeno, al formarse los acérvulos al final del ciclo de infección, al romper la cutícula de la planta para emerger y continuar con la reproducción asexual (da Silva *et al.*, 2020).



**Figura 2.** Antagonismo *in vitro* de *Clonostachys* sp. (Csp.) frente a *Colletotrichum kahawae* (Ck) y *Colletotrichum musae* (Cm). A-D) *Colletotrichum kahawae* (Ck). A: a las 24 horas de la evaluación. B: a las 192 horas de evaluación. C: 360 horas de evaluación. D: reverso de la caja en el día 15 de evaluación. E-H) *Colletotrichum musae* (Cm) contra *Clonostachys* sp. (Csp.). E: 24 horas de la evaluación. F: 192 horas de evaluación. G: 360 horas de evaluación. H: Conidióforos de *Clonostachys* sp. creciendo sobre acérvulos de *C. musae*.

Aunque el género *Clonostachys* ha sido objeto de estudio en relación con su actividad antagonica, existen pocas investigaciones centradas en su interacción con las especies del género *Colletotrichum*. Peters *et al.* (2020) aislaron a *Clonostachys rosea* como endófito de la planta de acaí (*Euterpe oleracea*) y demostraron su capacidad para inhibir el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal de la antracnosis. Este estudio presenta por primera vez la evaluación antagonica contra dos especies del género *Colletotrichum* que no habían sido evaluadas anteriormente.

En el caso de la interacción entre *F. solani* y *Clonostachys* sp. a las 168 horas, el micelio aéreo de *Clonostachys* sp. cambió su morfología, formando una colonia convexa con un margen fimbriado, a diferencia del testigo y los ensayos con otros hongos. Se observaron unas masas de conidios de consistencia acuosa en el margen a las 240 horas (Figura 3).



**Figura 3.** Antagonismo *in vitro* de *Clonostachys* sp. frente a *Fusarium* spp. A-D) *Fusarium solani* (Fs) contra *Clonostachys* sp. (Csp.) A: A las 24 horas de evaluación. B: a las 96 horas de evaluación. C: a las 360 horas de evaluación. D: masas de conidióforos de consistencia acuosa en el margen de *Clonostachys* sp. E-H) *Fusarium oxysporum* (Fo) contra *Clonostachys* sp. (Csp.) E: a las 24 horas de evaluación. F: a las 144 horas de evaluación. G: a las 192 horas de evaluación. H: a las 360 de evaluación.

Algunas de las características entre *F. oxysporum* y *Clonostachys* sp. fue que a las 168 horas, ambos alcanzaron a colonizar la mitad de la caja Petri, con los márgenes tocándose. Durante este periodo, los pigmentos de *F. oxysporum* se intensificaron, cambiando de un color lila al inicio del ensayo a un color morado intenso en el centro con márgenes claros al finalizar el experimento, manteniendo la misma coloración que el testigo (Figura 3).

Algunos trabajos realizados con los mismos géneros probados en este ensayo, mostraron que la actividad antagonista *in vitro* e *in vivo* de 10 cepas de *Clonostachys* y *F. circinatum* en plántulas de *Pinus radiata* (Moraga *et al.*, 2011) fue variable, donde las cepas inhibieron a *F. circinatum* hasta un 23 % en condiciones *in vitro*, no así en los ensayos *in vivo*, donde el porcentaje de supervivencia de las

plántulas infectas por el hongo aumentó. También se ha demostrado que las enzimas endoquitinasas, participan en el proceso de degradación de las paredes celulares de especies como *Fusarium culmorum* (Mamarabadi *et al.*, 2008).

Las interacciones observadas entre *Clonostachys* sp. y los hongos en estudio presentaron características distintivas, como la producción de masas de conidios y una morfología de micelio diferente durante el ensayo, particularmente en *F. solani*. Además, se registró una variación en la velocidad de invasión en cada hongo evaluado. Estas diferencias pueden atribuirse a factores como la regulación transcrip-tómica y la capacidad de *Clonostachys* para discriminar entre las especies que va a micoparasitar, como sucede en el caso de *C. rosea* (Nygren *et al.*, 2018).

Los ensayos duales para comprobar el efecto antagónico de las especies a nivel *in vitro* constituyen la base para buscar mejores candidatos para el control biológico de hongos causantes de enfermedades en cultivos de importancia económica. Dada la marcada actividad de la cepa de *Clonostachys* sp. frente a todos los hongos evaluados, esta se perfila como un buen candidato para futuras investigaciones para evaluar su efectividad *in vivo*.

## AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece a CONAHCyT por la beca otorgada (784028) para realizar sus estudios en el Posgrados de Micología Aplicada de la Universidad Veracruzana. Los autores agradecen a la Dra. María de Jesús Yáñez Morales por la donación de la cepa de *Colletotrichum museae*. A la Dra. Elmira San Martín técnica del CIMA-UV por la activación de las cepas. Al Biól. Aarón Pulido por la toma de fotografías.

## LITERATURA CITADA

- Adame GJ, Rodríguez GR, Iglesias AL, Ramos PJ, Luna M. 2015. Molecular identification and pathogenic variation of *Fusarium* species isolated from *Vanilla planifolia* in Papantla, Mexico. *Botanical Sciences* 93:669-678.
- Bell DK, Wells HD, Markham CR. 1980. *In Vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Ecology and Epidemiology* 72: 379-382. [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1982Articles/Phyto72n04\\_379.pdf](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1982Articles/Phyto72n04_379.pdf)
- Bertrand S, Schlump O, Bohni N, Bujard A, Azzollini A, Monod M, Gindro K, Wolfender JL. 2013. Detection of metabolite induction in fungal co-cultures on solid media by high-throughput differential ultra-high pressure liquid chromatography–time-of-flight mass spectrometry fingerprinting. *Journal of chromatography A*. 1292: 219-228.
- Camporota P. 1985. Antagonisme in vitro de *Trichoderma* spp. vis-a-vis de *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Agronomie* 5: 613-620.
- Cota BCI, García ERS, León FJ, Valenzuela HV, Mora RGA, Leyva MKY and Tovar P JM. 2022. First report of *Clonostachys chlo-roleuca* causing chickpea wilt in Mexico. *New Disease Report* 46: e12123. <https://doi.org/10.1002/ndr2.12123>
- Coyotl PWA, Romero AO, Mosso GC, Pacheco Y, Rivera TJA and Villa RN. 2022. First report of *Clonostachys rosea* associated with avocado fruit rot in Puebla, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 40:298-307. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2203-5>

- da Silva LL, Moreno HLA, Correia HLN, Santana MF and de Queiroz MV. 2020. *Colletotrichum*: species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of genetic variability. *Appl Microbiol Biotechnol* 104(5):1891-1904. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10363-y>.
- Funck D and Dubey M. 2022. *Clonostachys rosea* to Control Plant disease. Pp: 1-43. In: Köhl J. y Ravensberg W. (ed.), *Microbial bioprotectants for plant disease management*, Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, UK, 2022, (ISBN: 978 1 78676 813 1; [www.bdspublishing.com](http://www.bdspublishing.com)) 43p.
- Karlsson M, Durling BM, Choi J, Kosawang C, Lackner G, Tzelepis GD, Nygren K, Dubey KM, Kamou N, Levasseur A, Zapparata A, Wang J, Amby DB, Jensen B, Sarrocco S, Panteris E, Lagopodi AL, Pöggeler S, Vannacci G, Collinge DB, Hoffmeister D, Henrissat B, Lee Y H and Jensen D F. 2015. Insights on the evolution of mycoparasitism from the genome of *Clonostachys rosea*. *Genome Biology Evolution* 7: 465–480. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu292>.
- Lagunes M, López A, Ramos A, Trigos A, Salinas A y Espinoza C. 2015. Actividad antimicrobiana de extractos metanol:cloroformo de hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 33: 87-94. [https://rmf.smf.org.mx/Vol3312015/Notas-Fitop/1406\\_3\\_2015.pdf](https://rmf.smf.org.mx/Vol3312015/Notas-Fitop/1406_3_2015.pdf)
- Mamarabadi M, Jensen B and Lübeck M. 2008. Three endochitinase-encoding genes identified in the biocontrol fungus *Clonostachys rosea* are differentially expressed. *Current Genetics* 54:57–70. <https://doi.org/10.1007/s00294-008-0199-5>
- Moraga SP, Opazo A, Zaldúa S, González G and Sanfuentes. 2011. Evaluation of *Trichoderma* spp. and *Clonostachys* spp. strains to control *Fusarium circinatum* in *pinus radiata* seedlings. *Chilean Journal of agricultural research* 71: 412- 417. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392011000300011>
- Moore D., Robson G and Trinci A. 2020. Mycoparasitic and fungicolous fungi. Pp :462-466. In: Moore D, Robson GD, Trinci A P. (ed), *21<sup>st</sup> Century Guidebook to Fungi*. Second edition. Cambridge: Cambridge University Press. United Kingdom. 600p. <https://doi.org/10.1017/9781108776387>.
- Nygren K, Dubey M, Zapparata A, Iqbal M, Tzelepis GD, Durling MB, Jensen DF and Karlsson M. 2018. The mycoparasitic fungus *Clonostachys rosea* responds with both common and specific gene expression during interspecific interactions with fungal prey. *Evolutionary applications* 11(6): 931. <https://doi.org/10.1111/eva.12609>
- Peters LP, Prado SL, Silva FI, Souza FS and Carvalho CM. 2020. Selection of endophytes as antagonists of *Colletotrichum gloeosporioides* in açai palm. *Biological Control* 150: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104350>
- Rollan MC, Mónaco CI y Nico A. 1999. Efecto de la temperatura sobre la interacción in vitro entre especies de *Trichoderma* y *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor* y *S. rolfsii*. *Investigación Agropecuaria, Productividad y Protección Vegetal* 14: 33-48.
- Schroers HJ. 2001. A monograph of *Bionectria* (Ascomycota, Hypocreales, Bionectriaceae) and its *Clonostachys* anamorphs. *Studies in Mycology* 46: 1–214. <https://www.studiesinmycology.org/index.php/issue/48-studies-in-mycology-no-46>
- Scott PM and Soltz DR. 1998. Mutagens produced by *Alternaria alternata*. *Mutation Research* 78: 33-40. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(80\)90023-3](https://doi.org/10.1016/0165-1218(80)90023-3)
- Senanayake IC, Rathnayaka AR, Marasinghe DS, Calabon MS, Gentekaki E, Lee HB, Hurdeal VG, Pem D, Dissanayake LS, Wijesinghe SN, Bundhun D, Nguyen TT, Goonasekara ID, Abeywickrama PD, Bhunjun CS, Jayawardena RS, Wanasinghe DN, Jeewon R, Bhat DJ and Xiang MM. 2020. Morphological approaches in studying fungi: collection, examination, isolation, sporulation and preservation. *Mycosphere* 11: 2678- 2754. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/11/1/20>
- Sun ZB, Li SD, Ren Q, Xu JL, Lu X and Sun MH. 2020. Biology and applications of *Clonostachys rosea*. *Journal of Applied Microbiology* 129: 486-495. <https://doi.org/10.1111/jam.14625>
- Trigos A, Ramírez K y Salinas A. 2008. Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista Mexicana de Micología* 28: 125-129.