

# *Trichoderma asperellum* Ta13-17 in the growth of *Solanum lycopersicum* and biocontrol of *Corynespora cassiicola*

## *Trichoderma asperellum* Ta13-17 en el crecimiento de *Solanum lycopersicum* y biocontrol de *Corynespora cassiicola*

Sandy Esther Celis-Perera, Jairo Cristóbal-Alejo\*, Arturo Reyes-Ramírez, Rene Garruña-Hernández, José María Tun-Suarez, Tecnológico Nacional de México/ I. T. Conkal. Av. Tecnológico s/n C.P. 97345, Conkal Yucatán, México; Marcela Gamboa-Angulo, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Calle 43 x 32 y 34, Chuburná de Hidalgo, C.P. 97205, Mérida, Yucatán, México.

\*Corresponding author: jairoca54@hotmail.com.

Received: July 01, 2022.

Accepted: November 03, 2022.

Celis-Perera SE, Cristóbal-Alejo J, Reyes-Ramírez A, Garruña-Hernández R, Tun-Suarez JM and Gamboa-Angulo M. 2023. *Trichoderma asperellum* Ta13-17 in the growth of *Solanum lycopersicum* and biocontrol of *Corynespora cassiicola*. Mexican Journal of Phytopathology 41(1): 70-81.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2207-1>

First DOI publication: December 08, 2022.

Primera publicación DOI: 08 de Diciembre, 2022.

**Abstract.** *Corynespora cassiicola* is a pathogen that causes lesions in different organs of tomato crops. For its control, synthetic fungicides are used that require more than one application. *Trichoderma* spp. is a highly interactive saprophytic fungus in the rhizosphere known as a biological control agent against plant diseases and promoter of plant growth due to its different modes of action. The

**Resumen.** *Corynespora cassiicola* es un patógeno que causa lesiones en diferentes órganos en el cultivo de jitomate. Para su control se utiliza fungicidas sintéticos que requieren más de una aplicación. *Trichoderma* spp. es un hongo saprófito, altamente interactivo en la rizosfera conocido por sus modos de acción como agente de control biológico contra enfermedades en plantas y promotor del crecimiento vegetal. Se evaluó el efecto en las variables fisiológicas y de crecimiento en plantas de *Solanum lycopersicum* inoculadas con las concentraciones de esporas  $1 \times 10^0$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^8$  de *Trichoderma asperellum* Ta-13-17 y Fithan® (como testigo comercial) como agente de biocontrol de *C. cassiicola* en condiciones protegidas. Los tratamientos  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^8$  y Fithan® obtuvieron las tasas fotosintéticas más altas con 20.7, 20.6 y 19.6  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  respectivamente. El tratamiento  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  obtuvo las medias más altas en las variables de fotosíntesis 20.6  $\mu\text{mol m}^{-2}$

effect on physiological and growth variables in *Solanum lycopersicum* plants inoculated with spore concentrations  $1 \times 10^0$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  and  $1 \times 10^8$  of *Trichoderma asperellum* Ta-13-17 and Fithan®, (as a commercial control) was evaluated. As a biocontrol agent for *C. cassiicola* under protected conditions. The  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^8$  and Fithan® treatments obtained the highest photosynthetic rates with 20.7, 20.6 and 19.6  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  respectively. The  $1 \times 10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  treatment obtained the highest means in the photosynthesis variables 20.6  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , yield 1347.02 g per plant and presented a lower percentage of final severity, lower speed in the distribution of the disease and lower accumulation of area under the disease progress curve.

**Keywords:** Antagonist, biological control, photosynthesis, severity.

Tomato is one of the most consumed vegetables worldwide. *Corynespora cassiicola* is a pathogen that attacks tomato plants after the seedling stage, causing lesions on stems, flowers, and fruits. It is distributed in tropical areas, where it causes significant production losses. It is controlled mainly through the use of synthetic fungicides that require several applications during the crop cycle, causing environmental contamination and leading to the emergence of resistant strains (Rodríguez and Sandoval, 1998; Junxiang *et al.*, 2019).

*Trichoderma* spp. is a saprophytic fungus common in ecosystems and highly interactive in root, soil and leaf environments. It is known as a plant growth promoter and as a biological control agent against phytopathogens, an alternative to the use of synthetic fungicides. Its success is due to its mechanisms of action, which include antibiosis, emission of volatile antifungal compounds, production of defense enzymes, systemic resistance,

$\text{s}^{-1}$ , rendimiento 1347.02 g por planta y presentaron menor porcentaje de severidad final, menor velocidad en la distribución de la enfermedad y menor acumulación de área bajo la curva del progreso de la enfermedad.

**Palabras clave:** Antagonista, control biológico, fotosíntesis, severidad.

El jitomate es una de las hortalizas más consumidas a nivel mundial. *Corynespora cassiicola* es un patógeno que ataca las plantas de jitomate después de la fase de semillero, causa lesiones en tallos, flores y frutos. Se encuentra distribuido en zonas tropicales y su afectación genera importantes pérdidas de producción. Para su control, se utiliza principalmente fungicidas sintéticos que requieren de varias aplicaciones durante el ciclo del cultivo, lo que ocasiona contaminación ambiental y cepas del fitopatógeno resistentes (Rodríguez y Sandoval, 1998; Junxiang *et al.*, 2019).

Por otra parte, *Trichoderma* spp. es un hongo saprófito, común en ecosistemas y altamente interactivo en ambientes de raíces, suelo y hojas. Es conocido como promotor de crecimiento vegetal y como agente de control biológico contra fitopatógenos y es una alternativa para reducir el uso de fungicidas sintéticos. En este contexto, su éxito se debe a sus modos de acción como antibiosis, emisión de compuestos antifúngicos volátiles, producción de enzimas de defensa, resistencia sistémica y micoparasitismo a través de la perforación de la pared celular y la absorción de los nutrientes (Bhat, 2017; Imran *et al.*, 2020; Wonglom *et al.*, 2020; Zin y Badaluddin, 2020). Por otro lado, su capacidad endófito, le confiere relaciones simbióticas e induce la producción de metabolitos bioactivos que regulan con éxito la arquitectura de la raíz y mejora la absorción de nutrientes y el crecimiento en las

and mycoparasitism through cell wall perforation and nutrient absorption (Bhat, 2017; Imran *et al.*, 2020; Wonglom *et al.*, 2020; Zin and Badaluddin, 2020). Its endophytic capacity allows it to establish symbiotic relationships and induces the production of bioactive metabolites that successfully regulate root architecture and improve nutrient absorption and plant growth (Ying-Tzu *et al.*, 2017; Segaran and Sathivelu, 2019).

The present work aimed to evaluate the growth promotion induced by the inoculation of different concentrations of *T. asperellum* Ta13-17 and its effectiveness in the biocontrol of *C. cassiicola*, which causes leaf spot in *S. lycopersicum* plants.

The study was conducted at the National Technological Institute of Mexico, Campus Conkal. The crop was established in a tunnel-type greenhouse between October 2019 and February 2020 with an average minimum temperature of 19 °C and an average maximum temperature of 30 °C. Laboratory evaluations were carried out in the Phytopathology laboratory of the same institute. The native strain *T. asperellum* Ta13-17, which belongs to the strain collection of the Phytopathology laboratory, was used as biostimulant for plant growth and biocontrol, isolated in an endophytic form from the root and stem of chili pepper (*Capsicum annuum*) cv. Creole. The strain was molecularly identified, showing 100% homology and coverage with the reference sequences KC479809.1 and JF501661.1 from the Gene Bank of the National Center For Biotechnology Information (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). The phytopathogen evaluated was *C. cassiicola*. It was inoculated naturally and was molecularly identified in subsequent works (unpublished data) with 100% homology and access number: ON815356 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). The model plant was *S. lycopersicum* cv. Hybrid DRD 8551 type saladette, with determined growth, vigorous, resistance to heat and tolerant

plantas (Ying-Tzu *et al.*, 2017; Segaran y Sathivelu, 2019).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la promoción en el crecimiento por la inoculación de concentraciones de *T. asperellum* Ta13-17 y su capacidad en el biocontrol de *C. cassiicola*, causante de la mancha foliar en plantas de *S. lycopersicum*.

El estudio se realizó en el Tecnológico Nacional de México, Campus Conkal. El cultivo se estableció en un invernadero tipo túnel en los meses de Octubre-2019 a Febrero-2020 con una temperatura mínima promedio de 19 °C y máxima promedio de 30 °C. Las evaluaciones de laboratorio se llevaron a cabo en laboratorio de Fitopatología del mismo instituto. Se utilizó como bioestimulante de crecimiento vegetal y biocontrol la cepa nativa *T. asperellum* Ta13-17 que pertenece a la colección del cepario del laboratorio de Fitopatología, aislada de forma endófito de raíz y tallo de chile (*Capsicum annuum*) cv. Criollo e identificada molecularmente con una homología y cobertura del 100% con las secuencias de referencia KC479809.1 y JF501661.1, del Banco de Genes del National Center For Biotechnology Information (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). El fitopatógeno evaluado fue *C. cassiicola* inoculado de forma natural, identificado molecularmente en trabajos posteriores (Datos no publicados) con 100 % de homología y número de acceso: ON815356 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Como planta modelo se utilizó a *S. lycopersicum* cv. Híbrido DRD 8551 tipo saladette, de crecimiento determinado, vigoroso, con resistencia en temporadas de calor y tolerante a: virus del rizado amarillo del jitomate (*Tomato yellow leaf curl disease*-TYLCV), virus del mosaico del jitomate (*Tomato mosaic virus*-ToMV), *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 1, y 2, *Verticillium dahliae*, *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* (Seminis, 2022; <https://n9.cl/brb4j>).

to: tomato yellow leaf curl disease (*Tomato yellow leaf curl disease*-TYLCSV), tomato mosaic virus (*Tomato mosaic virus*-ToMV), *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 1 and 2, *Verticillium dahliae*, *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, and *M. javanica* (Seminis, 2022; <https://n9.cl/brb4j>).

A 5 mm disc of mycelium with seven-days growth of *T. asperellum* Ta13-17 was sown in four 500 mL Roux flasks with culture medium of dextrose potato broth for 21 days. The strain presented abundant mycelial growth, cottony, dark green in color, and abundant production of spores. These characteristics are associated with the species under study. After 21 days, the medium was filtered with sterile gauze. The filtrate was placed in 50 mL Falcon tubes and centrifuged three times for 20 minutes at 3,000 rpm. The spores were recovered and used as the mother solution. Dilutions of the stock solution were made until concentrations of  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  and  $1 \times 10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  were obtained. To corroborate the number of conidia per dilution, 10  $\mu\text{L}$  of each solution were taken and counted in a Neubauer chamber, applying the formula  $\text{NE} = (\text{X}/0.1) (1,000) (9)$ , where NE: No. of spores, X: average of quadrants recorded in the Neubauer camera (Gómez-Ramírez *et al.*, 2013).

To evaluate the promotion of plant growth, tomato seeds were placed in flasks with 30 mL of the corresponding spore solution plus 1 mL of Tween 20, then shaken for 10 min. The seeds were then drained and sown in polystyrene trays with 75 cavities. Two reinforcements of the treatments were applied 15 and 45 days after germination. During the latter, the plants were transplanted in 4 kg plastic bags with sterile soil (120 °C for 15 min). Irrigation was applied with a nutrient solution (20N-20P-20K 1 g  $\text{L}^{-1}$ ). The experiment was maintained under protected conditions and the treatments were applied using a completely randomized experimental design:  $1 \times 10^0$ ,  $1 \times 10^5$ ,

Se sembró un disco de micelio de 5 mm con siete días de crecimiento de *T. asperellum* Ta13-17 en cuatro frascos Roux de 500 mL con medio de cultivo caldo de papa más dextrosa por 21 días, la cepa presentó un crecimiento micelial abundante, algodonoso en color verde oscuro y abundante producción de esporas; características asociadas a la especie en estudio. Pasado el tiempo, se filtró el medio con una gasa estéril, el filtrado se colocó en tubos Falcón de 50 mL y se centrifugó tres veces por 20 minutos a 3,000 rpm, se recuperaron las esporas y se consideró como la solución madre. Se realizaron diluciones de la solución madre hasta que se obtuvieron las concentraciones  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ . Para corroborar el número de conidios por dilución, se tomaron 10  $\mu\text{L}$  de cada solución y se contabilizaron en una cámara Neubauer, y se aplicó la fórmula  $\text{NE} = (\text{X}/0.1) (1,000) (9)$ , donde: NE: No. De esporas, X: promedio de los cuadrantes registrados en la cámara Neubauer (Gómez-Ramírez *et al.*, 2013).

Para evaluar la promoción de crecimiento vegetal se colocaron las semillas de jitomate en matraces con 30 mL de la solución de esporas correspondiente más 1 mL de Tween 20, se agitaron durante 10 min. Después las semillas se escurrieron y se sembraron en charolas de poliestireno de 75 cavidades, se aplicaron dos refuerzos de los tratamientos a los 15 y 45 días después de la germinación, en esta última se realizó el trasplante en bolsas plásticas de 4 kg con suelo estéril (120 °C por 15 min), se dio riego con una solución nutritiva (20N-20P-20K 1 g  $\text{L}^{-1}$ ). El experimento se mantuvo en condiciones protegidas bajo un diseño experimental completamente al azar con los tratamientos:  $1 \times 10^0$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  de *T. asperellum* Ta-13-17 y Fithan® (testigo comercial a base de *T. harzianum*, *T. fasciculatum* y *T. viride*). Se consideró 10 repeticiones por tratamiento donde cada planta se tomó como una repetición (Candeleiro *et al.*, 2015).

$1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  and  $1 \times 10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  of *T. asperellum* Ta-13-17 and Fithan® (commercial control based on *T. harzianum*, *T. fasciculatum*, and *T. viride*). Ten repetitions per treatment were used, with each plant taken as a repetition (Candelero *et al.*, 2015).

A SPAD 502 meter (Minolta, Tokyo, Japan) was used to measure the physiological variables 65 days after transplantation (dat) to determine the influence of the *T. asperellum* Ta13-17 strain on the plants. SPAD units were estimated (a quantitative evaluation of the intensity of the green of leaves) and an infrared gas analyzer (LICOR 6400XT, Nebraska, United States) was used to assess the following variables: photosynthesis, stomatal conductance (SC), intercellular carbon (IC), transpiration and water use efficiency (USA). These variables were evaluated 65 days after transplantation. Three plants were taken at random from each treatment; five readings were made per leaf and four leaves were read per plant (Garruña-Hernández *et al.*, 2014).

At the end of the experiment (130 days after sowing), a destructive sampling was carried out, taking 10 plants per treatment. Plant height (PH) and stem diameter (SD) were measured. The displacement method was used to estimate root volume (VR). The dry weight of each organ (leaves, stem and root) and the partial dry weight of plants were measured in plants dried in a convection oven for 96 hours at 60 °C. Normality tests were performed on the data, giving a p-value <0.0001. An analysis of variance was performed and a comparison of means was performed using Tukey's method ( $p \leq 0.05$ ).

At 80 dat, the presence of *C. cassiicola* was detected naturally in the culture. The biocontrol effect of *T. asperellum* Ta13-17 was estimated by measuring the severity of the disease using a six-class scale where: 1=1%, 2= 5%, 3=10%, 4=20%

Se midieron variables fisiológicas a los 65 días después del trasplante (ddt) para determinar la influencia de la cepa de *T. asperellum* Ta13-17 en las plantas, con un SPAD 502 (Minolta, Tokio, Japón) se estimaron las unidades SPAD (evalúa cuantitativamente la intensidad del verde de la hoja) y con un analizador de gases en infrarrojo (LICOR 6400XT, Nebraska, Estados Unidos) se estimaron: fotosíntesis, conductancia estomática (CE), carbono intercelular (CI), transpiración y eficiencia del uso de agua (EUA), estas variables fueron evaluadas a los 65 días después del trasplante, se tomaron tres plantas al azar de cada tratamiento y se realizaron cinco lecturas por hoja y cuatro hojas por planta (Garruña-Hernández *et al.*, 2014).

Al final del experimento (130 días después de la siembra) se realizó un muestreo destructivo, se tomaron las 10 plantas por tratamiento, se midió altura de planta (AP), diámetro del tallo (DT), por el método de desplazamiento se estimó el volumen de raíz (VR), el peso seco por órgano (hojas, tallo y raíz) y el peso seco parcial que se contabilizó en plantas secadas en un horno de convección durante 96 horas a 60 °C. Se realizaron pruebas de normalidad a los datos dando un p-valor <0.0001, análisis de varianza y la prueba de comparación de medias por el método de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

A los 80 ddt se detectó de manera natural la presencia *C. cassiicola* en el cultivo, el biocontrol por *T. asperellum* Ta13-17 se estimó con la medición de la severidad mediante una escala de seis clases donde: 1=1 %, 2=5 %, 3=10 %, 4=20 % y 5=40 % y 6=60 % o más de daño (Costa *et al.*, 2015). Se hicieron tres evaluaciones a los 80, 90 y 100 ddt. Con los datos de severidad, se construyeron curvas del progreso de la enfermedad y se estimaron mediante modelos epidemiológicos la intensidad de la enfermedad: área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), mediante el método de integración trapezoidal y la tasa de infección aparente



and 5=40% and 6=60% or more damage (Costa *et al.*, 2015). Three evaluations were made at 80, 90 and 100 dat. With the severity data, disease progress curves were constructed, and the intensity of the disease was estimated using epidemiological models. The area under the disease progress curve (AUDPC) was built using the trapezoidal integration method. The apparent infection rate was estimated using the inverse parameter of  $b$  ( $1/b$ ) from the Weibull model. The final severity was calculated using  $Y_{\text{final}}$  (Mejía-Bautista *et al.*, 2016).

The analysis of variance showed significant differences between treatments for the SPAD variable. The highest average of SPAD units (40.3) was estimated in the treatment inoculated with *T. asperellum* Ta13-17 at a concentration of  $1 \times 10^5$  conidia  $\text{mL}^{-1}$ . The control treatment showed 37.8, which indicated a higher concentration of nitrogen in the leaves of these treatments (Table 1). The values of SPAD units found in the present study were lower than those reported by Mendoza *et al.* (1998) without the incorporation of fungal inoculants.

mediante el parámetro inverso de  $b$  ( $1/b$ ) del modelo Weibull, se calculó la severidad final, mediante  $Y_{\text{final}}$  (Mejía-Bautista *et al.*, 2016).

El análisis de varianza, mostró diferencias significativas entre tratamientos para la variable de unidades SPAD, en el tratamiento inoculado con *T. asperellum* Ta13-17 en la concentración  $1 \times 10^5$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  se estimó el mayor promedio (40.3) al igual que el testigo con 37.8, lo que indicó mayor concentración de nitrógeno presente en las hojas de estos tratamientos (Cuadro 1). Los valores de unidades SPAD en este estudio, fueron inferiores a los reportadas por Mendoza *et al.* (1998), sin la incorporación de inoculantes fúngicos.

No hubo una relación entre las unidades SPAD y la fotosíntesis donde los tratamientos  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^8$  y Fithan® obtuvieron las tasas fotosintéticas más altas con 2.8, 2.7 y  $1.7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  mayores al testigo, en su orden. El tratamiento Fithan® presentó la mayor conductancia estomática, se relacionó su actividad fotosintética al estimar mayor captación de  $\text{CO}_2$ , sin embargo, presentó mayor acumulación de carbono intercelular con  $323.4 \mu\text{mol mol}^{-1}$  al igual que el testigo sin inoculante fúngico,

**Table 1. Physiological variables of DRD 8551 hybrid tomato plants inoculated with the Ta13-17 strain of *T. asperellum* 13-17.**

**Cuadro 1. Variables fisiológicas de plantas de jitomate híbrido DRD 8551 inoculadas con la cepa Ta13-17 de *T. asperellum*.**

Tratamiento	Unidades SPAD	Fotosíntesis $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	CE $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	CI $\mu\text{mol mol}^{-1}$	Transpiración $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	UEA $\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$
$1 \times 10^5$	40.3±0.56 a	17.5±0.29 c	0.66±0.02 d	310.2±1.60 b	11.5±0.15 d	1.5±0.03 bc
$1 \times 10^6$	36.4±0.80 b	20.7±0.41 a	0.86±0.03 bc	309.4±1.84 b	13.2±0.16 a	1.5±0.04 bc
$1 \times 10^7$	29.9±0.61 c	18.7±0.37 bc	0.80±0.04 c	314.4±0.61 b	12.7±0.12 bc	1.4±0.02 c
$1 \times 10^8$	34.8±0.78 b	20.6±0.43 a	0.91±0.01 b	313.7± 0.98 b	12.9±0.10 ab	1.6±0.02 b
Fithan	37.3±1.08 b	19.6±0.08 ab	1.07±0.02 a	323.4±0.82 a	12.4±0.03 c	1.5±0.01 bc
Testigo	37.8±0.51 ab	17.9±0.36 c	0.88±0.02 bc	324.7±1.37 a	10.0±0.06 e	1.7±0.04 a

Los valores son medias  $\pm$  EE; letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ );  $n = 10$ . CE: Conductancia estomática, CI: Carbono intercelular, UEA: Uso eficiente de agua. / Los valores son medias  $\pm$  EE; letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ );  $n = 10$ . CE: Conductancia estomática, CI: Carbono intercelular, UEA: Uso eficiente de agua.

There was no relationship between SPAD units and photosynthesis. The treatments with  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^8$  and Fithan® obtained the highest photosynthetic rates with 2.8, 2.7 and  $1.7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectively, higher than the control. The Fithan® treatment showed the highest stomatal conductance, which was associated with its photosynthetic activity. A greater  $\text{CO}_2$  uptake was estimated; however, there was also a greater accumulation of intercellular carbon with  $323.4 \mu\text{mol mol}^{-1}$ , as in the control treatment without fungal inoculant. This indicated that the Fithan® treatment had low photosynthetic activity (Table 1), which means that the carbon molecules in the intercellular spaces were not efficiently assimilated and started to accumulate. The control treatment had the lowest transpiration value, which is associated with better efficiency in the use of water. This suggests a stable relationship between stomatal opening and transpiration in this treatment.

The highest transpiration values were found in treatments  $1 \times 10^6$  ( $13.2 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) and  $1 \times 10^8$  ( $12.9 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). This means that a greater content of water was lost for each molecule of  $\text{CO}_2$  that was fixed for the photosynthesis process. The treatments of the plants inoculated with *T. asperellum* Ta 13-17 presented lower efficiency in the use of water. Studying wheat plants inoculated from the seed with *Trichoderma* spp., Mulu *et al.* (2020) reported increased photosynthesis, decreased stomatal conductance, intercellular  $\text{CO}_2$  and transpiration, which improved water use efficiency under salt stress conditions.

There were no statistical differences between treatments with respect to plant height and root dry weight. The  $1 \times 10^5$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  treatment had the highest biomass production in leaves, as indicated by having the highest average dry weight of this organ, statistically equal to the  $1 \times 10^6$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  treatment, 45.9 and 30.1 g higher values,

lo que indicó baja actividad fotosintética en este tratamiento (Cuadro 1), en este contexto con una actividad de fotosíntesis baja; las moléculas de carbono en los espacios intercelulares, no son asimilados con eficiencia lo que genera su acumulación. El testigo presentó el valor más bajo en transpiración, lo que causó mejor eficiencia en el uso de agua, esto sugiere una relación estable entre la apertura estomática y la transpiración en las plantas de este tratamiento.

La mayor transpiración se encontró en los tratamientos  $1 \times 10^6$  ( $13.2 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y  $1 \times 10^8$  ( $12.9 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) es decir, se perdió mayor contenido de agua por cada molécula de  $\text{CO}_2$  que logró fijar para el proceso de fotosíntesis. Los tratamientos en las plantas inoculadas con *T. asperellum* Ta 13-17 presentaron menor eficiencia en el uso de agua. Mulu *et al.* (2020) en plantas de trigo, inoculadas desde semilla con *Trichoderma* spp. reportaron aumento en la fotosíntesis, disminución de la conductancia estomática,  $\text{CO}_2$  intercelular y transpiración, lo que mejoró la eficiencia en el uso del agua bajo condiciones de estrés salino.

No se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos con respecto a la altura de planta y peso seco de raíz. El tratamiento  $1 \times 10^5$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  acumuló la mayor producción de biomasa en hojas reflejado en la media más alta en el peso seco de este órgano, estadísticamente igual al tratamiento  $1 \times 10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  con 45.9 y 30.1 g más que las plantas del tratamiento Fithan que presentó el menor peso seco de hojas. En relación al peso seco del tallo, los tratamientos fueron estadísticamente iguales a excepción del  $1 \times 10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  que presentó el menor peso seco. El tratamiento  $1 \times 10^5$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ , obtuvo la media más alta en el peso seco con 47.2 g más que el tratamiento Fithan, estadísticamente  $1 \times 10^5$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  fue igual a los tratamientos  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  y al testigo sin inoculante fúngico. La mayor producción de frutos se obtuvo

respectively, than the values obtained with the Fithan® treatment plants, which had the lowest dry weight of leaves. Regarding the dry weight of the stem, the treatments were statistically equal except for the  $1 \times 10^6$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  treatment, which had the lowest dry weight of the stem. The  $1 \times 10^5$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  treatment obtained the highest mean dry weight, 47.2 g higher than the Fithan® treatment. Statistically, the  $1 \times 10^5$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  treatment was equal to the  $1 \times 10^6$  and  $1 \times 10^7$  treatments, as well as to the control treatment without fungal inoculant. The highest fruit production was obtained with the  $1 \times 10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  treatment with 1347.0 g per plant, 259.4 g higher than the control treatment without the presence of *T. asperellum* Ta13-17. This result was statistically equal to the  $1 \times 10^7$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  treatment (Table 2).

Cetz-Chi *et al.* (2018) reported increases in the growth of tomato plants, with height gains between 4.4 and 14.2% when inoculated with the native species *T. virens* (Th33-59 and Th26-52) and *T. simmonsii* (Th33-58). The Th33-59 strain of *T. virens* increased root volume and root dry weight with respect to the control. Ruiz-Cisneros *et al.* (2018) observed increases in plant height, stem diameter, and root length in tomato plants

con el tratamiento  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  con 1347.0 g por planta, 259.4 g superior al testigo sin la presencia de *T. asperellum* Ta13-17. Este resultado fue estadísticamente igual al tratamiento  $1 \times 10^7$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  (Cuadro 2).

Cetz-Chi *et al.* (2018) reportaron incrementos en el crecimiento de plantas de jitomate, con ganancias de altura entre 4.4 y 14.2 % cuando se inocularon con especies nativas: *T. virens* (Th33-59 y Th26-52) y *T. simmonsii* (Th33-58), Th33-59 de *T. virens* incrementó el volumen radical y el peso seco de raíz con respecto al testigo. Ruiz-Cisneros *et al.* (2018) observaron incrementos en altura de planta, diámetro de tallo y longitud de raíz en plantas de jitomate cuando se inocularon con *T. asperellum*, *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* en concentraciones de  $10^6$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ . Márquez-Benavidez *et al.* (2017) indicaron incrementos en la longitud radical en plántula y mayor producción de biomasa fresca de hojas y raíz en etapa de floración en plantas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con *T. harzianum*.

El éxito en la promoción de crecimiento en plantas inoculadas con *Trichoderma* spp. se asocia con la relación simbiótica; *Trichoderma* aprovecha compuestos producidos por las plantas como carbohidratos, ácidos orgánicos y vitaminas, mientras

**Table 2. Growth in hybrid tomato plants DRD 8551 inoculated with the Ta13-17 strain of *T. asperellum* 13-17.**  
**Cuadro 2. Crecimiento en plantas de jitomate híbrido DRD 8551 inoculadas con la cepa Ta13-17 de *T. asperellum*.**

Tratamientos	AP (cm)	PSH (g)	PST (g)	PSR (g)	PSParcial (g)	Rendimiento (g/planta)
$1 \times 10^5$	224.6±5.75 a	78.3±4.40 a	37.1±7.14 ab	11.1±4.67 a	126.5±10.0 a	918.0±70.90 bc
$1 \times 10^6$	211.2±14.19 a	62.5±10.93 ab	29.6±2.99 b	7.2±1.64 a	99.3±13.47 ab	914.5±84.93 bc
$1 \times 10^7$	203.0±6.27 a	45.3±4.91 bc	42.4±2.75 ab	6.7±0.49 a	94.4±6.52 ab	1160.8±49.36 ab
$1 \times 10^8$	220.2±4.68 a	48.9±2.82 bc	31.1±1.05 ab	7.1±0.54 a	86.7±3.34 b	1347.0±64.93 a
Fithan	217.6±8.01 a	32.4±2.42 c	40.4±4.63 ab	6.1±0.83 a	79.3±3.78 b	783.1±26.41 c
Testigo	204.4±8.85 a	47.4±7.17 bc	47.9±2.84 a	5.4±0.57 a	100.8±8.34 ab	901.4±26.41 bc

Los valores son medias ± EE; letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ );  $n = 10$ . AP: Altura de planta, PSH: Peso seco de hojas, PST: Peso seco de tallo, PSR: Peso seco de raíz, PSParcial: Peso seco parcial y VR: Volumen de raíz. / Los valores son medias ± EE; letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ );  $n = 10$ . AP: Altura de planta, PSH: Peso seco de hojas, PST: Peso seco de tallo, PSR: Peso seco de raíz, PSParcial: Peso seco parcial y VR: Volumen de raíz.



inoculated with *T. asperellum*, *T. harzianum*, and *T. longibrachiatum* at concentrations of  $10^6$  conidia  $\text{mL}^{-1}$ . Marquez-Benavidez *et al.* (2017) reported increases in root length in seedlings and greater production of fresh biomass of leaves and roots in the flowering stage of *Phaseolus vulgaris* plants inoculated with *T. harzianum*.

The success in promoting growth in plants by inoculating them with *Trichoderma* spp. is associated with the symbiotic relationship. *Trichoderma* takes advantage of compounds produced by plants such as carbohydrates, organic acids and vitamins, while plants use phytohormones and secondary metabolites secreted by fungi, which also facilitate the decomposition and mineralization of organic matter and improve the availability of nutrients in the soil (Ortiz -Castro *et al.*, 2009). Other mechanisms that promote plant growth activity are the ability of *Trichoderma* to produce indoleacetic acid, which acts as a catalyst for primary meristematic tissues and the activation of plant plasma membrane enzymes that promote cell growth and division as well as plant growth (Moo-Koh *et al.*, 2017; González-Marquetti *et al.*, 2019).

Some *Trichoderma* isolates can solubilize nutrients close to the roots, which allows these substances to be assimilated by the plant. It has been suggested that *T. asperellum* enhances the uptake of Fe in deficient environments. Moreover, the protein QID74 present in the cell wall modifies the root architecture, increases the total absorption surface and the translocation of nutrients in the shoots, resulting in an increase in biomass through an efficient use of N, P, K and micronutrients (Zhao *et al.*, 2014; González-Marquetti *et al.*, 2019).

The Fithan® treatments and the control treatment without fungal inoculant presented the highest rates of disease progress, with 0.0082 and 0.0085% per day. They also presented higher AUCPE and higher

que las plantas utilizan fitohormonas y metabolitos secundarios secretados por los hongos, además, facilitan la descomposición y mineralización de materia orgánica y mejoran la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Ortiz-Castro *et al.*, 2009). Otros mecanismos que promueven la actividad de crecimiento en las plantas, son la capacidad de *Trichoderma* para producir ácido indolacético, que actúa como catalizador de tejidos meristemáticos primarios y la activación de enzimas de la membrana plasmática de las plantas, que favorecen el crecimiento y la división celular y promueve el crecimiento de la planta (Moo-Koh *et al.*, 2017; González-Marquetti *et al.*, 2019).

Algunos aislados de *Trichoderma* pueden solubilizar nutrientes cercanos a las raíces, lo que permite que estas sustancias puedan ser asimiladas por la planta. Se ha sugerido que *T. asperellum* mejora la absorción de Fe en ambientes deficientes. Además, la proteína QID74 presente en la pared celular modifica la arquitectura de la raíz, aumenta la superficie de absorción total y la translocación de nutrientes en los brotes, lo que resulta en un aumento de la biomasa a través de un uso eficiente de N, P, K y micronutrientes (Zhao *et al.*, 2014; González-Marquetti *et al.*, 2019).

Los tratamientos Fithan® y el testigo sin inoculante fúngico, presentaron las mayores tasas de infección aparente del progreso de la enfermedad con 0.0082 y 0.0085 % por día, también, presentaron mayor ABCPE y mayor porcentaje de severidad final. La enfermedad disminuyó en las plantas del tratamiento  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  con 0.0078 unidad % por día. Estadísticamente, los tratamientos inoculados con *T. asperellum* Ta13-17 fueron iguales en menor acumulación de ABCPE en el tiempo evaluado, el tratamiento  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  presentó la menor ABCPE con 275.8 Unidad % día<sup>-1</sup> menos que el testigo sin inoculante fúngico y una severidad final de 18.74 % menor al testigo indicado (Cuadro 3).

percentages of final severity. The disease decreased in plants treated with  $1 \times 10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  with 0.0078 unit% per day. Statistically, the treatments inoculated with *T. asperellum* Ta13-17 showed an equally low accumulation of AUCPE during the evaluation time. The treatment with  $1 \times 10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  presented the lowest AUCPE with 275.8 unit%  $\text{day}^{-1}$ , less than the control treatment without fungal inoculant. The final severity was 18.74% lower than the control (Table 3).

Baiyee *et al.* (2019) reported a significant decrease in the severity of leaf spot disease caused by *C. cassiicola* and *C. aeria* in lettuce plants inoculated with *T. asperellum* T1. Wonglom *et al.* (2020) attributed resistance against *C. cassiicola* and *C. aeria* to volatile organic compounds emitted by *T. asperellum* T1.

Antagonistic microorganisms in association with plants reduce the severity of the disease by inducing responses that are triggered by the production of defense-related enzymes and enzymes that hydrolyze the cell wall (Baiyee *et al.*, 2019).

Baiyee *et al.* (2019) reportaron con la inoculación de *T. asperellum* T1 una disminución significativa en la severidad de la enfermedad de la mancha foliar causada por *C. cassiicola* y *C. aeria* en plantas de lechuga. Por su parte Wonglom *et al.* (2020) atribuyeron la resistencia contra *C. cassiicola* y *C. aeria* a los compuestos orgánicos volátiles emitidos por la cepa T1 de *T. asperellum*.

Los microorganismos antagonistas en asociación con las plantas reducen la severidad de la enfermedad, al inducir respuestas que se desencadenan con la producción de enzimas relacionadas con la defensa y enzimas que hidrolizan la pared celular (Baiyee *et al.*, 2019).

## CONCLUSIONES

La concentración de  $1 \times 10^8$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  *T. asperellum* Ta13-17 presentó los mejores efectos positivos en las variables fisiológicas y de crecimiento en plantas de jitomate, ya que mejoró la actividad fotosintética y el rendimiento del cultivo. Además,

**Table 3. Epidemiological parameters to estimate the control of *C. cassiicola* in hybrid tomato plants DRD 8551 inoculated with *T. asperellum* Ta13-17.**

**Cuadro 3. Parámetros epidemiológicos para estimar el control de *C. cassiicola* en plantas de jitomate híbrido DRD 8551 inoculadas con *T. asperellum* Ta13-17.**

Tratamiento	Weibull (Tasa de infección aparente (1/b)) % día	r <sup>2</sup> ajuste del modelo	ABCPE (Unidad % día <sup>-1</sup> )	Y <sub>Final</sub> (%)
1 x 10 <sup>5</sup>	0.0016±0.0 c	0.974	141.4±0.29 b	2.2±0.09 b
1 x 10 <sup>6</sup>	0.0070±0.0 b	0.964	185.8±0.35 b	8.5±0.50 b
1 x 10 <sup>7</sup>	0.0019±0.0 c	0.989	105.1±0.20 b	1.4±0.13 b
1 x 10 <sup>8</sup>	0.0007±0.0 d	0.956	86.1±0.07 b	1.2±0.05 b
Fithan	0.0082±0.0 a	0.922	359.6±0.47 a	21.9±0.91 a
Testigo	0.0085±0.0 a	0.959	361.9±0.52 a	19.7±0.29 a

Los valores son medias ± EE; letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ );  $n = 10$ , ABCPE: área bajo la curva del progreso de la enfermedad, Y<sub>final</sub>: severidad final. / Los valores son medias ± EE; letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey,  $p \leq 0.05$ );  $n = 10$ , ABCPE: área bajo la curva del progreso de la enfermedad, Y<sub>final</sub>: severidad final.

## CONCLUSIONS

The concentration of  $1 \times 10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  of *T. asperellum* Ta13-17 presented the best positive effects on the physiological and growth variables of tomato plants. This concentration improved photosynthetic activity and crop yield. Moreover, it improved the resistance of the plants by reducing the progress of the disease and the final severity of the fungus infection.

## ACKNOWLEDGMENTS

To the National Technological Institute of Mexico/Conkal Campus and the National Council for Science and Research (CONACYT), as well as to the researchers who were part of this work.

## CITED LITERATURE

- Bhat KA. 2017. A new agar plate assisted slide culture technique to study mycoparasitism of *Trichoderma* sp. on *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 6: 3176–3180. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.608.378>
- Baiyee B, Itod S and Sunpapao A. 2019. *Trichoderma asperellum* T1 mediated antifungal activity and induced defense response against leaf spot fungi in lettuce (*Lactuca sativa* L.). Physiological and Molecular Plant Pathology 106: 96–101. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.12.009>
- Cetz-Chi JI, Cristóbal AJ, Tún SJ, Peraza LF y Candelero de la CJ. 2018. Especies nativas de *Trichoderma* spp. y su actividad antagonica contra *Meloidogyne incognita* en *Solanum lycopersicum* L. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes 26(73): 5-12. <https://doi.org/10.33064/iycuaa201873136>
- Candelero CJ, Cristóbal, AJ, Reyes, RA, Tun, SJ, Gamboa, AM y Ruiz SE. 2015. *Trichoderma* spp. promotoras del crecimiento en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq. y antagonicas contra *Meloidogyne incognita*. Revista Internacional de Botánica Experimental FYTON 84: 113-119. [https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/519/1/2015\\_AI\\_id37069\\_Marcela\\_Gamboa.pdf](https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/519/1/2015_AI_id37069_Marcela_Gamboa.pdf)
- Costa LD, Marouelli WA, Duarte H da SS and Café-Filho AC. 2015. Standard area diagrams for assessment of powdery mildew severity on tomato leaves and leaflets.

mejoró la resistencia de las plantas al disminuir el progreso de la enfermedad y la severidad final del hongo fitopatogéno.

## AGRADECIMIENTOS

Al Tecnológico Nacional de México/Campus Conkal y al Concejo Nacional de Ciencia e Investigación (CONACYT), así como como a los investigadores que formaron parte de este trabajo.

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

- Crop Protection 67: 26-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2014.09.014>
- Garruña-Hernández R, Latournerie-Moreno L, Ayala-Garay O, Santamaría JM y Pinzón-López L. 2014. Acondicionamiento pre-siembrado: una opción para incrementar la germinación de semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). Agrociencia 48: 413-423. 2014. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952014000400006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952014000400006)
- González-Marquetti I, Infante MD, Arias VY, Gorrita RS, Hernández GT, Noval PB, Martínez CB y Peteira B. 2019. Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt and Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304. Revista de Protección Vegetal 34(2): 2224-4697. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522019000200004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522019000200004)
- Gómez-Ramírez SE, Gilchrist-Ramelli E y Reynaldi S. 2013. Importancia del aislamiento y del rango de concentración de conidias en el efecto de *Trichoderma asperellum* sobre el crecimiento de plántulas de *Solanum lycopersicum* L. Revista Colombiana de Biotecnología 15(1): 118-125. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752013000100012&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752013000100012&script=sci_abstract&tlng=es)
- Imran A, Arif M, Shah Z and Bari A. 2020. Soil application of *Trichoderma* and peach (*Prunus persica* L.) residues possesses biocontrol potential for weeds and enhances growth and profitability of soybean (*Glycine max*). Sarhad Journal of Agriculture 36(1): 10-20. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2020/36.1.10.20>
- Junxiang L, Hong N, Peng B, Wu H and Gu Q. 2019. Transformation of *Corynespora cassiicola* by *Agrobacterium tumefaciens*. Fungal Biology 123: 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.05.011>

- Márquez-Benavidez L, Rizo LM, Montaña AN, Ruiz NN y Sánchez YJ. 2017. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a la inoculación de diferentes dosis de *Trichoderma harzianum* con el fertilizante nitrogenado reducido al 50%. Journal of the Selva Andina Research Society 8(2): 125-134. <http://dx.doi.org/10.36610/j.jsars.2017.080200135>
- Mendoza RM, Alcántar GG, Aguilar SA, Etchevers BJ y Santizó RJ. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. Terra Latinoamericana 16(2): 135-141. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57316204>
- Mejía-Bautista M, Reyes RA, Cristóbal AJ, Tun SJ, Borges GL y Pacheco AJ. 2016. *Bacillus* spp. en el Control de la Marchitez Causada por *Fusarium* spp. en *Capsicum chinense*. Revista Mexicana de Fitopatología 34(3): 208-222. DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1603-1
- Mulu OA, Hussain T, Waghmode T, Zhao H, Sun H, Xiaojing L, Xinzhen W and Binbin L. 2020. *Trichoderma* Enhances Net Photosynthesis, Water Use Efficiency, and Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Salt Stress. Microorganisms 8:1565. doi:10.3390/microorganisms8101565
- Moo-Koh F, Cristóbal AJ, Reyes RA, Tun SJ y Gamboa AM. 2017. Identificación molecular de aislados de *Trichoderma* spp. y su actividad promotora en *Solanum lycopersicum* L. Investigación y Ciencia 25(71): 5-11. <https://www.redalyc.org/journal/674/67452917001/html/>
- Ortiz-Castro R, Contreras CA, Macías RL and López BJ. 2009. The role of microbial signals in plant growth and development. Plant Signaling & Behavior 4(8): 701-712. <https://doi.org/10.4161/psb.4.8.9047>
- Rodríguez F y Sandoval I. 1998. Efectividad de diferentes productos químicos y el biopreparado de *Trichoderma harzianum* (Rifai) contra enfermedades fúngicas del tomate de hidropónico. Fitosanidad 2(1): 1-6. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CU2003100496>
- Ruiz-Cisneros MF, Ornelas PJ, Olivas OG, Acosta MC, Sepúlveda AD, Pérez CD, Ríos, VC, Salas MM and Fernández PS. 2018. Effect of *Trichoderma* spp. and phytopathogenic fungi on plant growth and tomato fruit quality. Revista Mexicana de Fitopatología 36(3): 444-456. DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1804-5>
- Segaran G and Sathiavelu M. 2019. Fungal endophytes: A potent biocontrol agent and a bioactive metabolites reservoir. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 21: 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101284>
- Wonglom P, Shin-ichi I and Sunpapao A. 2020. Volatile organic compounds emitted from endophytic fungus *Trichoderma asperellum* T1 mediate antifungal activity, defense response and promote plant growth in lettuce (*Lactuca sativa*). Fungal Ecology 43: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.100867>
- Ying-Tzu L, San-Gwang H, Yuh-Ming H and Cheng-Hua H. 2017. Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and *Fusarium* wilt of tomato. Crop Protection 30:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.03.021>
- Zhao L, Wang F, Zhang Y and Zhang J. 2014. Involvement of *Trichoderma asperellum* strain T6 in regulating iron acquisition in plants. Journal of Basic Microbiology 54: S115-S124. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63415-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63415-3)
- Zin N A and Badaluddin NA 2020. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences 65:168-178. <https://doi.org/10.1016/j.aas.2020.09.003>