

Control de *Colletotrichum* “agente causal de la antracnosis en el fruto del mango (*Mangifera indica* L.)” aplicando metabolitos de *Trichoderma*

Control of *Colletotrichum* “causal agent of anthracnose in mango fruit (*Mangifera indica* L.)” applying *Trichoderma* metabolites

| | |
|----------------------------------------|----------------------------|
| Jose Sandoval Niebles ¹ | ORCID: 0000-0001-6134-0429 |
| Jhonny Paredes Escobar ² | ORCID: 0000-0002-2486-1652 |
| Karen Villanueva Centeno ³ | ORCID: 0000-0003-4641-0040 |
| Daladier Castillo Cotrina ⁴ | ORCID: 0000-0003-0133-5921 |
| Rocío Murgueytio Gómez ⁵ | ORCID: 0000-0002-8918-7881 |
| Rosa Liñan Abanto ⁶ | ORCID: 0000-0003-4026-3246 |
| Rosalía Callohuari Quispe ⁷ | ORCID: 0000-0003-1714-2606 |

Resumen

El uso de hongos controladores para el control de hongos fitopatógenos actualmente se está aplicando ampliamente como parte del proceso de la agricultura orgánica, pero también para la comercialización de frutos de exportación que están expuestos a enfermedades fúngicas que acarrearán pérdidas cuantiosas. En este trabajo, se tuvo como objetivo evaluar el control de *Colletotrichum* “agente causal de la antracnosis en el fruto del mango (*Mangifera indica* L.)” aplicando metabolitos de *Trichoderma*, para determinar los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial y de la inhibición de la germinación de las conidias de *Colletotrichum* sp. y del control de las lesiones de la antracnosis de *Colletotrichum* en el fruto del mango. Se hicieron evaluaciones *in vitro*, aplicando antagonismo de los *T. harzianum* y *T. viride* contra *Colletotrichum* sp. en pruebas duales, y solución de metabolitos de los *Trichoderma* contra suspensiones de conidias de *Colletotrichum* sp.; e *in vivo*, aplicando soluciones de metabolitos de los *Trichoderma* sobre el fruto del mango infectado con *Colletotrichum* sp. En los resultados, se muestra que los *Trichoderma*, *in vitro*, como inóculo fúngico y como solución de metabolitos, inhiben respectivamente el crecimiento micelial y la germinación de conidias de *Colletotrichum* sp. significativamente; e *in vivo*, como solución de metabolitos sobre el fruto del mango, controlan la antracnosis de *Colletotrichum* sp.; siendo la solución de metabolitos de *T. viride*, el que ejerce un

¹ Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Facultad de Ciencias. Tacna, Perú. E-mail: Jsandovaln28@gmail.com

² Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Facultad de Ciencias. Tacna, Perú. E-mail: jparedese@unjbg.edu.pe

³ Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Facultad de Ciencias. Tacna, Perú. E-mail: Kqqrem.kv@gmail.com

⁴ Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Facultad de Ciencias. Tacna, Perú. E-mail: dcastilloc@unjbg.edu.pe

⁵ Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Facultad de Ciencias. Tacna, Perú. E-mail: rmurgueytiog@unjbg.edu.pe

⁶ Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Facultad de Ciencias. Tacna, Perú. E-mail: rlinana@unjbg.edu.pe

⁷ Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Facultad de Ciencias. Tacna, Perú. E-mail: liabiolgroup@gmail.com

mayor control comparable al de un biocontrolador que puede ser empleado para controlar la antracnosis en el fruto del mango, sobre todo de exportación.

Palabras clave: Antagonismo, biocontrol, *Colletotrichum*, metabolitos fúngicos, *Trichoderma*

Abstract

The use of controlling fungi for the control of phytopathogenic fungi is currently being widely applied as part of the organic agriculture process but also for the marketing of export fruits that are exposed to fungal diseases that cause significant losses. The objective of this work was to evaluate the control of Colletotrichum “causal agent of anthracnose in mango fruit (Mangifera indica L.)” by applying Trichoderma metabolites to determine the percentages of mycelial growth inhibition and germination inhibition of the conidia of Colletotrichum sp. and control of Colletotrichum anthracnose lesions in mango fruit. In vitro evaluations were made applying antagonism of T. harzianum and T. viride against Colletotrichum sp. in dual tests and solution of Trichoderma metabolites against suspensions of Colletotrichum sp. conidia; and in vivo by applying Trichoderma metabolite solutions on mango fruit infected with Colletotrichum sp. The results show that Trichoderma, in vitro, as a fungal inoculum, and as a solution of metabolites, respectively inhibit mycelial growth and conidia germination of Colletotrichum sp. significantly; and in vivo as a solution of metabolites on the fruit of the mango control the anthracnose of Colletotrichum sp.; being the solution of metabolites of T. viride the one that exerts a greater control comparable to that of a biocontroller that can be used to control anthracnose in mango fruit, especially for export.

Keywords: antagonism; biocontrol; *Colletotrichum*; fungal metabolites; *Trichoderma*.

INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) es una planta tropical de hoja perenne perteneciente a la familia Anacardiaceae. Es uno de los cultivos frutales de mayor importancia económica a nivel mundial (Tovar-Pedraza *et al.*, 2019; Mirza *et al.*, 2021), con producción en la mayoría de países tropicales y subtropicales (Kamle *et al.*, 2013). Entre 2021 y 2022, Perú fue el cuarto exportador de mango, a nivel mundial, principalmente de los países bajos, Estados Unidos y Francia, de las variedades Kent, Haden Keitt y Tommy Atkins (PortalFruticola.com, 2022). El área sembrada de mango en el Perú es de aproximadamente 18 853 ha y las principales áreas productoras son las regiones de Piura, Lambayeque y Ancash (Servicio Nacional de Sanidad Agraria, 2022). La exportación del fruto del mango es por vía marítima y refrigerada; durante su transporte y vida útil en los puntos de venta es frecuente el desarrollo de diferentes pudriciones postcosecha, principalmente la antracnosis (Sivakumar *et al.*, 2021).

La antracnosis es una de las enfermedades postcosecha más comunes que afectan al mango y es causada por el hongo *Colletotrichum* (Luo *et al.*, 2015; Lima *et al.*, 2018; Mo *et al.*, 2018; Tovar-Pedraza *et al.*, 2019; Valenzuela-Ortiz *et al.*, 2022). Sus síntomas aparecen como manchas necróticas irregulares en hojas, ramitas, panículas y flores del mango (Mo *et al.*, 2018; Tovar-Pedraza *et al.*, 2019). *Colletotrichum* spp. infectan la fruta del mango al producir apresorios que penetran la superficie de la fruta, permanece en latencia en frutas inmaduras (Konsue *et al.*, 2020). En la fruta madura se desarrollan lesiones de color marrón oscuro a negro; en condiciones de alta humedad, aparecen cuerpos fructíferos (acérvulos) de color rosa anaranjado (Sivakumar *et al.*, 2021), afectando la calidad y el valor económico de la fruta (Sivakumar *et al.*, 2021), generando pérdidas en la producción en un 30 a 60 %, y que puede llegar a un 100 % si se dan

las condiciones óptimas para el patógeno (Li *et al.*, 2019a).

La base del manejo de los problemas fitosanitarios postcosecha se centra en la aplicación de fungicidas químicos, el mejoramiento de variedades más resistentes a las enfermedades y prácticas culturales (Khan *et al.*, 2020); sin embargo, el uso excesivo de fungicidas químicos ha traído como consecuencia el desarrollo de cepas fitopatógenas resistentes, repercusiones en la salud humana y animal, contaminación del medio ambiente y afectación a microbios benéficos (Ramírez – Vigil *et al.*, 2020; Khan *et al.*, 2020), por esta razón, actualmente se está dando atención al control biológico, porque no es contaminante del ambiente, no perjudica al consumidor e inhibe el crecimiento de fitopatógenos por competencia o por la producción de metabolitos (Ramírez – Vigil *et al.*, 2020; Khan *et al.*, 2020; Valenzuela – Ortiz *et al.*, 2022).

Los hongos *Trichoderma* spp. pertenecen a la familia Hypocreaceae (Li *et al.*, 2019b) y son los agentes de biocontrol más utilizados y efectivos (Filizola *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2020; de Zotti *et al.*, 2020), debido a que producen enzimas líticas degradadoras de la pared celular, colonizan las raíces, compiten por nutrientes, inducen la resistencia sistémica de plantas (Tamandegani *et al.*, 2020; Hewedy *et al.*, 2020), producen un amplio repertorio de metabolitos antimicrobianos (Li *et al.*, 2019b; de Zotti *et al.*, 2020; Khan *et al.*, 2020; Tamandegani *et al.*, 2020; Alfiky & Weisskopf, 2021; Zhang *et al.*, 2021). Del mismo modo, están adaptados y extendidos en diferentes ecosistemas (Vos *et al.*, 2015; Tamandegani *et al.*, 2020) y habitan el suelo y la rizósfera de las plantas de donde mayormente son aislados (Vos *et al.*, 2015; Stracquadiano *et al.*, 2020; Mulatu *et al.*, 2022).

Los metabolitos producidos por *Trichoderma* spp. son volátiles y no volátiles, productos del metabolismo primario (fase logarítmica) y secundario (fase estacionaria) (Marques *et al.*, 2018); los secundarios son segregados cuando existen las condiciones mínimas nutricionales y de gran interés por su rol antimicrobiano (Khan *et al.*, 2020; Alfiky & Weisskopf, 2021), de bajo peso molecular (Khan *et al.*, 2020), capaces de inhibir el crecimiento de fitopatógenos (Stracquadiano *et al.*, 2020), producidos en un número mayor a 100 (pironas, terpenos, esteroides, policétidos, péptidos no ribosomales, sideróforos, gliotoxina, gliovirina y peptaibols (Mukherjee *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2020).

Según Khan *et al.* (2020) citado por Zhang *et al.* (2021) *Trichoderma* sp. produce 45 metabolitos secundarios con actividad fungicida, y según Li *et al.* (2019b) *Trichoderma harzianum* 32 metabolitos secundarios no volátiles de donde el compuesto trichodermina tiene actividad antifúngica contra *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Thanatephorus cucumeris*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* y *Cochliobolus miyabeanus*, y *Trichoderma viride*, 17 nuevos antibióticos (peptaibols), un nuevo derivado de pironona (tricopirona) y 10 compuestos conocidos (bisvertinol, bislongiquinolida, trichodermanonas A – D, rezishanona, vertinolida, tricodimerol y ácido 2 – furancarboxílico con actividad fungicida.

La efectividad de la antibiosis por metabolitos secundarios no volátiles producidos por *Trichoderma* spp. ha traído consigo el desarrollo de productos comerciales, como biofungicidas a base de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, que son utilizados para controlar diferentes enfermedades en varios cultivos (Ngo *et al.*, 2021) por lo que en este trabajo se tuvo como objetivo evaluar el control de *Colletotrichum* “agente causal de la antracnosis en el fruto del mango (*Mangifera indica* L.)”, aplicando metabolitos de *Trichoderma* para determinar los porcentajes de la inhibición del crecimiento micelial (PIRG) y la inhibición de la germinación de las conidias de *Colletotrichum* sp., y el control de las lesiones de la antracnosis de *Colletotrichum* en el fruto del mango, con el propósito de conocer el potencial biocontrolador de *Trichoderma* para su uso en el control y prevención de enfermedades en el fruto del mango sobre todo de exportación causadas por *Colletotrichum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de *Trichoderma* y *Colletotrichum*

Los productos comerciales biofungicidas TRICHONOVA *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* de Novagri S.A.C. fueron dos fuentes de inóculos, para el aislamiento de *T. harzianum* y *T. viride*, en la que cada una fue suspendida y agitada en agua destilada, sembrada en placas Petri de 60 x 15 mm con agar papa dextrosa (PDA, 200 g de papa, 20 g de glucosa, 18 g de agar, 1 l de agua) (Zheng *et al.*, 2021) y antibiótico (50 mg ml⁻¹ de cloranfenicol) e incubada a temperatura de ambiente hasta que se observó crecimiento micelial. Los cultivos fueron mantenidos a 4 °C. Los frutos de mangos de la variedad “Edwards” con lesiones típicas de antracnosis fueron la fuente de inóculo para el aislamiento de *Colletotrichum* sp., que se hizo de manera similar a los de *Trichoderma*.

Caracterización morfológica de *Trichoderma* y *Colletotrichum*

T. harzianum, *T. viride* y *Colletotrichum* sp. fueron sembrados en Agar papa dextrosa “PDA”, Agar harina de maíz dextrosa “CMD” (40 g de harina de maíz, 20 g de glucosa, 18 g de agar, 1 l de agua) y Agar sintético bajo en nutrientes “SNA” (1 g de KH₂PO₄, 1 g de KNO₃, 0.5 g de MgSO₄, 0.5 g de KCl, 0.2 g de glucosa, 0.2 g de sacarosa, 18 g de agar, 1 l de agua), e incubados a 25, 30 y 35 °C con fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad (Zhu *et al.*, 2017; Qiao *et al.*, 2018; Gu *et al.*, 2020; Rodríguez *et al.*, 2021; Zheng *et al.*, 2021) durante 72 horas. El crecimiento de las colonias fue evaluado macroscópicamente midiendo el radio al final de la incubación y cuando cubrió toda la superficie del medio de cultivo en la placa Petri (Zheng *et al.*, 2021); y microscópicamente a través de tomas fotográficas con ayuda de un microscopio Leica DM 750, de una cámara digital Leica ICC50E y de fuentes bibliográficas (Rifai, 1969; Bissett, 1991; Chaverri & Samuels, 2003; Samuels *et al.*; 2012 & Bissett *et al.*, 2015).

Obtención de las soluciones de metabolitos de *T. harzianum* y *T. viride*

Los *Trichoderma* fueron sembrados en placas Petri con Agar papa dextrosa durante 2 semanas a 25 °C para obtener las respectivas colonias fúngicas. Estas sirvieron para extraer discos cilíndricos con micelios de los hongos desarrollados, inoculados en 300 ml de Caldo papa dextrosa, incubados en oscuridad a 25 °C durante 10 días; y los micelios desarrollados filtrados con papel de filtro Whatman N°1 y con membrana Millipore Merck (47 mm de diámetro, 150 µm de grosor y un diámetro de poro de 0.22 µm). Los filtrados como solución de metabolitos se almacenaron a -20 °C hasta su utilización (Joshi *et al.*, 2016; Stracquadanio *et al.*, 2020).

Antagonismo por cultivo dual de *Trichoderma* sobre *Colletotrichum*

La capacidad antagónica de *T. harzianum* y *T. viride* sobre *Colletotrichum* sp. se probó mediante la técnica de cultivo dual. Para ello, se utilizó el método de Pereira *et al.* (2021), como se describe a continuación: en cajas Petri de 90 x 15 mm con PDA, se confrontaron los antagonistas contra el patógeno, colocando frente a frente un disco de 5 mm de diámetro de micelio activo de cada uno de ellos, separados a 6 cm aproximadamente, se incubaron a 25 °C en oscuridad. Se midió diariamente el crecimiento radial del patógeno. Los controles fueron placas con solo el patógeno y se realizaron tres repeticiones. El porcentaje inhibitorio del crecimiento radial (PIRG) se calculó utilizando la siguiente fórmula (García-Núñez *et al.*, 2017; De la Cruz-Quiroz *et al.*, 2018; Stracquadanio *et al.*, 2020):

$$PIRG\% = \frac{(D_c - D_t)}{D_c} \times 100$$

Donde PIRG fue el porcentaje de inhibición del crecimiento;

Dc, la tasa de crecimiento de *Colletotrichum* sp. (control);

Dt, la tasa de crecimiento del *Colletotrichum* sp. en presencia de *Trichoderma*.

Aplicación de soluciones de metabolitos de *Trichoderma* para la inhibición de la germinación de las conidias de *Colletotrichum* sp. y para el control de las lesiones de antracnosis de *Colletotrichum* sp. en el fruto del mango

En placas Petri estériles de 60 x 15 mm, sin medio de cultivo, se depositó por separado 1000 µl de solución de metabolitos de *T. harzianum* y *T. viride*, y 50 µl de una suspensión de 10⁵ conidias ml⁻¹ de *Colletotrichum*. Las placas se incubaron a 25 °C, durante 24 horas; con ayuda de un microscopio Leica DM750, se contaron 100 conidias entre germinadas y no para la determinación del porcentaje de germinación de conidias (Gálvez-Marroquín *et al.*, 2022). La conidia se consideró germinada cuando su tubo germinativo tuvo al menos 2 veces el diámetro mayor de la conidia. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones y las placas testigo solo caldo papa dextrosa.

Los mangos de la variedad “Edwards” (3 frutos por tratamiento) fueron desinfectados superficialmente con hipoclorito de sodio al 0.1 % por 10 minutos, sumergidos en la solución de metabolitos de *Trichoderma* e inoculados con 20 µl de 10⁶ conidias ml⁻¹ de *Colletotrichum*, en dos puntos diferentes, por fruto. Posteriormente, estos fueron incubados en una cámara húmeda a 25 °C, humedad relativa de 85 % y con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad durante 15 días. El tratamiento experimental fue comparado con un testigo y un tratamiento químico que fue el fungicida TEBUNOVA 25 EW, cuyo ingrediente activo correspondió a Tebuconazol, con una concentración de 2000 µg ml⁻¹ (De los Santos-Villalobos *et al.*, 2012; Peláez-Álvarez *et al.*, 2016; Zapata-Narváez *et al.*, 2021).

Análisis estadístico

Los datos registrados fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA), para establecer las diferencias entre los tratamientos y el orden de estos con la prueba de test LSD de Fisher ($p < 0,05$) utilizando el software Rstudio versión 4.1.2.

RESULTADOS

Caracterización macroscópica y microscópica de *Trichoderma* y *Colletotrichum*

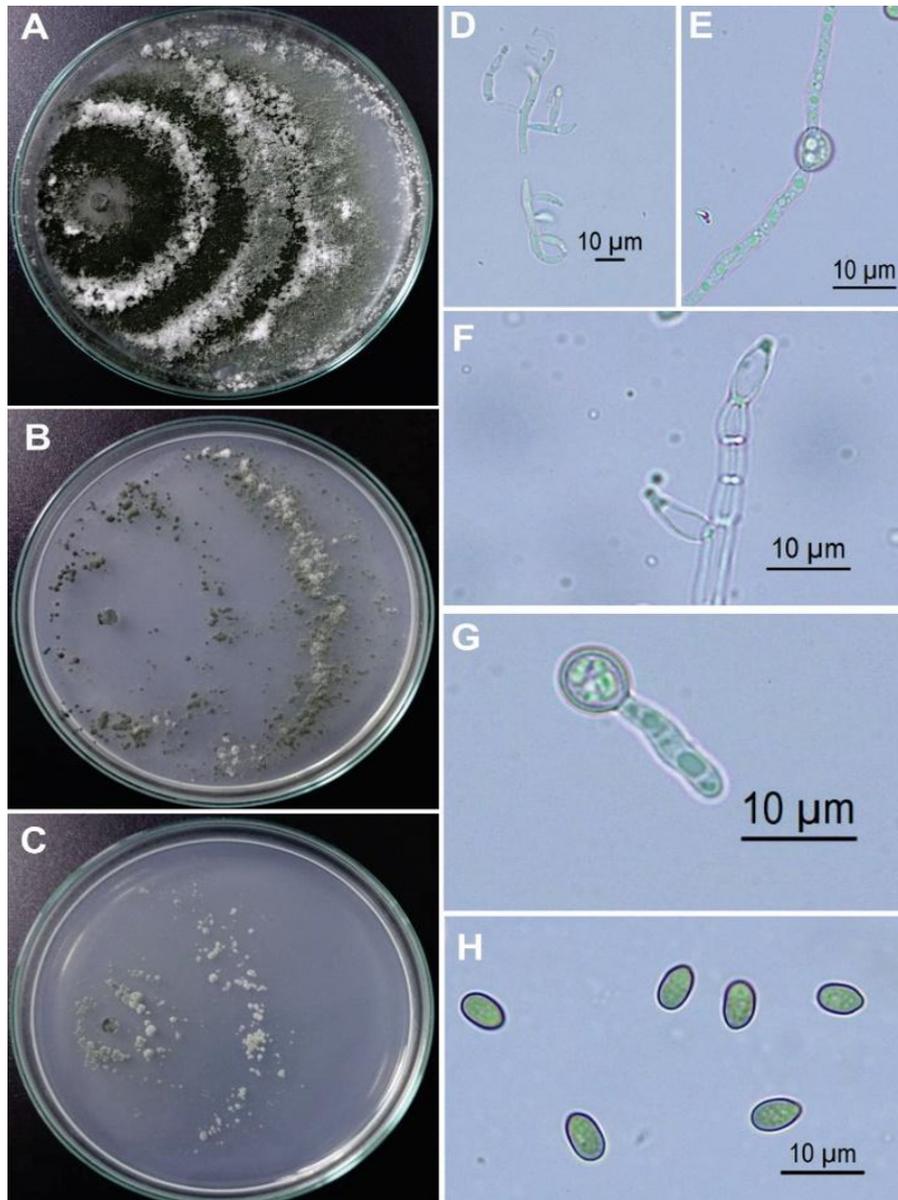
El crecimiento de *T. harzianum* en los medios de cultivo fue óptimo a 30 °C y lento a 35 °C. En el PDA, su colonia a las 72 horas, con un fotoperiodo de 12 horas, tuvo un radio de 52.5 mm a 25 °C, 57.6 mm a 30 °C y 45.4 mm a 35 °C, cubrió la placa después de 4 días a 30 °C con un micelio aéreo abundante y flocoso con una conidiación abundante que cubrió la placa a las 96 horas, sin pigmentos difundidos ni olor. En el CMD, su colonia a las 72 horas tuvo un radio de 50.3 mm a 25 °C, 55.8 mm a 30 °C y 40.1 mm a 35 °C, cubriendo la placa a los 4 días a 25 °C con una conidiación a las 72 horas, con bastantes pústulas grandes de forma granular y polvorienta, de color verde glauco al inicio, que cambió a un verde oscuro, bordeado de escaso micelio aéreo flocoso de color blanco grisáceo sin pigmento difundido ni olor. En el SNA, su colonia a las 72 horas, tuvo un radio de 33.7 mm a 25 °C, 38.2 mm a 30 °C y 20.1 mm a 35 °C, cubrió la placa a los 6 días a 25 °C con un micelio aéreo, escaso, con pocas pústulas grandes alrededor del punto de inoculación, de color verde glauco al inicio que cambió a un verde lima, sin pigmento difundido ni olor.

Los conidióforos fueron hialinos, flexuosos y muy ramificados, con verticilos de 2 a 3, con una estructura piramidal y con fiálides ampuliformes a lageniformes, $(8.4-9.3 - 9.5(-12,3) \times (2.1-3.1 - 3.6(-4.7)) \mu\text{m}$ (media = $9.6 \times 3.4 \mu\text{m}$); con una relación longitud-ancho de fiálide de $(2.5-2.7 - 3.1(-4.1))$ (media =

2.97), con conidias subglobosas a obovoides o elipsoidales con $(5.6-6.5 - 6.6(-7.2) \times (3.6-3.8 - 3.9(-4.7) \mu\text{m}$ (media = $6.5 \times 4.1 \mu\text{m}$), con una relación largo-ancho de la conidia de $1.6 - 1.7$ (media = 1.6), con paredes lisas y delicadamente rugosas de un color verde pálido. Clamidosporas abundantes, intercaladas y terminales de $(7.1-8.2 - 8.8(-9.9) \times (6.4-7.9 - 8.4(-9.4) \mu\text{m}$ delicadamente rugosas, de forma subglobosa a elipsoidales o piriformes y con pared hialina (Figura 1).

Figura 1

Trichoderma harzianum



Nota: cultivo de 10 días a 30 °C en PDA (A), en CMD (B), en SNA (C), (D y F); y conidióforos con fiálides en CMD (D, F), Clamidospora intercalada y terminal en SNA (E, G) y conidios (H).

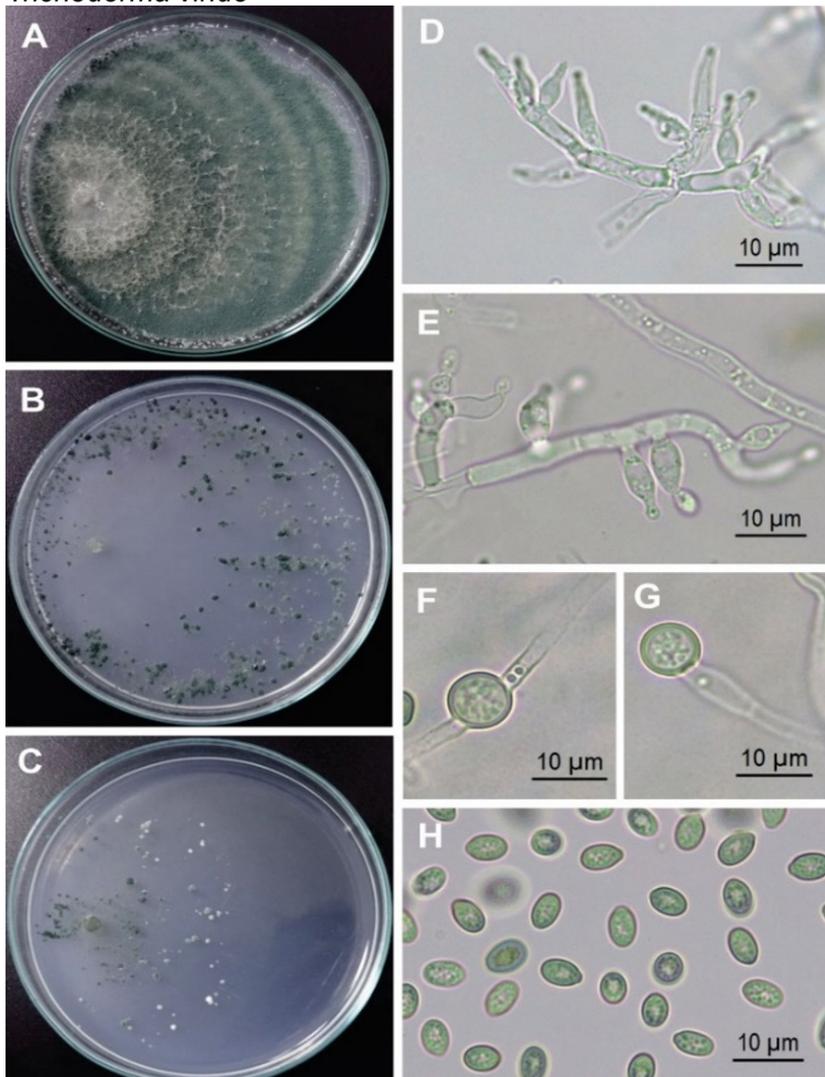
El crecimiento de *T. viride* en los medios de cultivo fue óptimo a 25 °C y lento a 35 °C. En el PDA, su colonia a las 72 horas, con un fotoperiodo de 12 horas, tuvo un radio de 68.5 mm a 25 °C, 57.4 mm a 30 °C y 39.8 mm a 35 °C, cubrió la placa después de 4 días a 25 °C con un micelio aéreo abundante y denso con una conidiación abundante que cubrió toda la placa a las 96 horas y se desarrolló en varios anillos concéntricos alternados de color verde y amarillo opaco, comenzando alrededor del punto de inoculación, sin presencia de pigmento difundido ni olor. En el CMD, la colonia a las 72 horas tuvo un radio de 50.1 mm a 25 °C, 45.7

mm a 30 °C y 20.8 mm a 35 °C, cubriendo la placa a los 5 a 6 días a 25 y 30 °C con una conidiación a las 48 horas, con pústulas distribuidas regularmente en la placa de forma granular a polvorienta, de color blanco al principio cambiando a un verde oscuro a partir del tercer día, bordeado de escaso micelio aéreo sin formación de pigmento y sin olor. En el SNA, su colonia a las 72 horas tuvo un radio de 33.6 mm a 25 °C, 31.4 mm a 30 °C y 10.1 mm a 35 °C, cubrió la placa a los 8 a 10 días a 25 y 30 °C con un micelio aéreo escaso con pocas pústulas compactas alrededor del punto de inoculación, de color blanco grisáceo al principio tornándose después a un verde oscuro, sin pigmento ni olor.

Los conidióforos fueron hialinos, simples, piramidales y muy ramificados, con 2 a 3 fiálides terminales lageniformes comúnmente curvados a sinuosos, con menor número rectos, con longitudes de $(9.2-10.5 - 11.1(-14.1) \times (2.7-3.2 - 3.5(-4.2) \mu\text{m}$ (media = $11.1 \times 3.5 \mu\text{m}$); con una relación longitud ancho de fiálide de $(3.0-3.1 - 3.2(-3.4)$ (media = 3.2); con conidias globosas a subglobosas, con poca frecuencia ovoidales de $(3.3-3.5 - 3.8(-4.1) \times (3.2-3.3 - 3.4(-3.6) \mu\text{m}$ (media = $3.7 \times 3.4 \mu\text{m}$), con una relación largo ancho de conidia de 1.0 – 1.2 (media = 1.1), de paredes lisas y delicadamente rugosas de un color verde olivo. Clamidosporas terminales, poco frecuente intercaladas, de $(5.4-7.1 - 7.8(-9.1) \times (4.1-6.3 - 6.8(-7.3) \mu\text{m}$, delicadamente rugosas, de forma subglobosa y con pared hialina (Figura 2).

Figura 2

Trichoderma viride

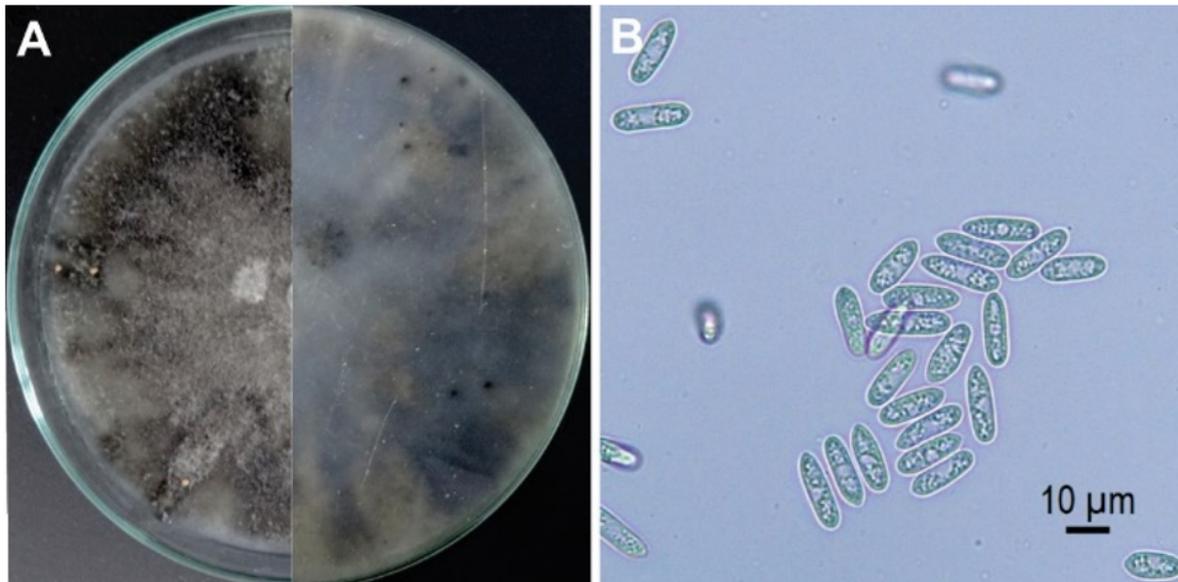


Nota: Cultivo de 10 días a 25 °C en PDA (A), en CMD (B), en SNA (C), y conidióforos con fiálides en PDA (D y E), clamidospora intercalada y terminal en SNA (F, G) y conidios (H).

El crecimiento de *Colletotrichum* sp. fue óptimo a 25 °C en PDA, con una colonia que cubrió la placa a los 10 días con un micelio aéreo de color gris blanquecino en su inicio, que después cambió a un color gris oscuro con unas pocas masas conidiales de color naranja brillante alrededor del punto de inoculación. Sus conidias fueron cilíndricas con extremos ligeramente obtusos a redondeados, de (16.2-)17.3 – 17.7(-19.1) × (4.3-)4.9 – 5.3(-6.2) μm (media = 17.5 × 5.3 μm), con una relación largo ancho de la conidia de 3.3 – 3.5 (media = 3.4), de paredes lisas y hialinas (Figura 3).

Figura 3

Colletotrichum sp.



Nota: cultivo de 10 días a 25 °C en PDA (A), conidias (B).

Inhibición del crecimiento de *Colletotrichum* por *Trichoderma* en cultivo dual

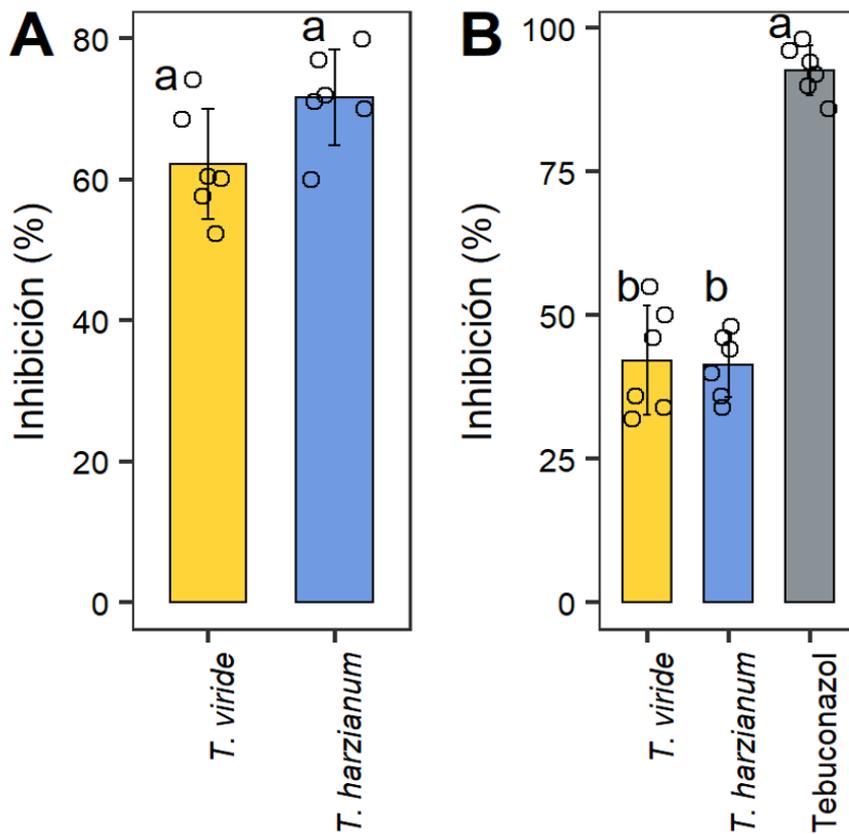
Colletotrichum sp. fue inhibido en su crecimiento por antibiosis y por micoparasitismo por *T. harzianum* (71.6 %) y *T. viride* (62.1 %). Los porcentajes de inhibición no presentaron diferencias estadísticamente significativas. La acción antagónica de los *Trichoderma* produjo destrucción del micelio de *Colletotrichum* (Figura 4 A).

Inhibición de la germinación de las conidias de *Colletotrichum* por la solución de metabolitos de *Trichoderma*

Las conidias de *Colletotrichum* fueron inhibidas en su germinación por los metabolitos de *T. harzianum* (41.3%) y *T. viride* (42.2%). Los porcentajes de inhibición no presentaron diferencias estadísticamente significativas. El fungicida químico Tebucanazol inhibió la germinación de la conidias de *Colletotrichum* en un 92.7% (Figura 4 B).

Figura 4

Porcentaje de inhibición



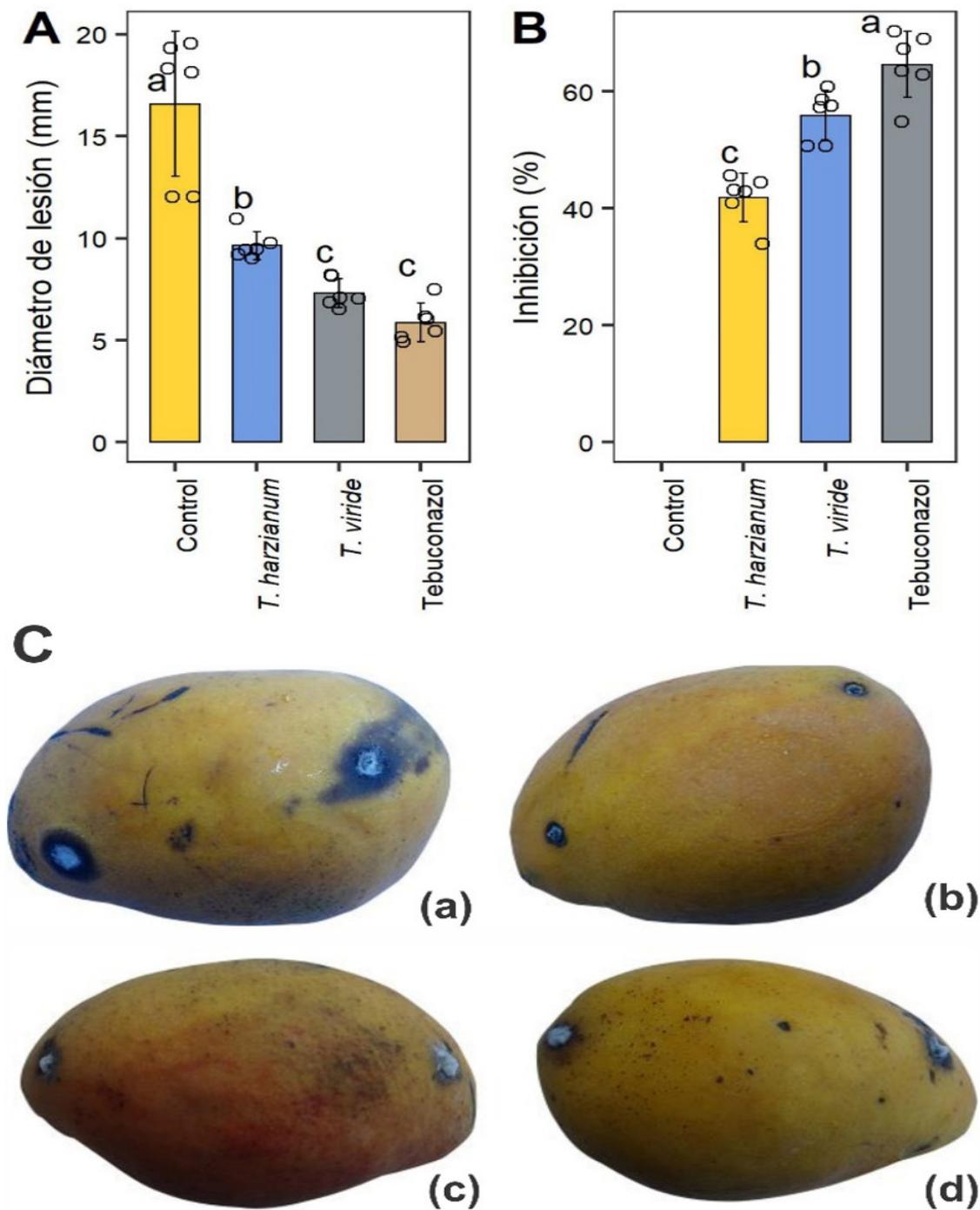
Nota: (A) Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial de *Colletotrichum* sp. por *T. viride* y *T. harzianum* en cultivo dual. (B) Porcentaje de inhibición de la germinación de conidias de *Colletotrichum* sp. por la solución de metabolitos de *T. viride* y *T. harzianum* y por el fungicida químico Tebuconazol.

Control de las lesiones de la antracnosis de *Colletotrichum* en el fruto del mango por la solución de metabolitos de *Trichoderma*

La solución de metabolitos de *T. harzianum* y *T. viride* y el fungicida químico redujeron significativamente la extensión de los síntomas de la antracnosis de *Colletotrichum* en el fruto del mango, en comparación con el tratamiento control (Figura 5 C). Los diámetros de las lesiones de *Colletotrichum* en el fruto del mango, donde se aplicó la solución de metabolitos de *T. harzianum* y *T. viride* y del fungicida químico no presentaron diferencias estadísticamente significativas. Estos diámetros con sus porcentajes de disminución en relación al control respectivamente fueron 9.6 mm (<50%), 7.3 mm (55.9%) y 5.86 mm (64.6%), valores estadísticamente diferentes (Figura 5 A) (Figura 5 BA) (Figura 5 C).

Figura 5

Control de las lesiones de la antracnosis de *Colletotrichum* en el fruto del mango por la solución de metabolitos de *T. harzianum* y *T. viride* y por el fungicida Tebuconazol



Nota: (A) Diámetro de las lesiones, (B) Porcentajes de control de las lesiones con diferencias estadísticas significativas; (C) Patogenicidad de *Colletotrichum* sobre la superficie del mango: (a) en control, (b) con fungicida Tebuconazol, (c) con solución de metabolitos de *T. viride*, (d) con solución de metabolitos de *T. harzianum*

DISCUSIÓN

Las características macroscópicas y microscópicas de *T. harzianum* y *T. viride*, provenientes del producto comercial TRICHONOVA, coinciden en forma parcial con las reportadas por Bissett (1991), Chaverri & Samuels (2003), Jaklitsch *et al.* (2006), Samuels *et al.* (2012) y Bissett *et al.* (2015). Es posible que las diferencias encontradas se deban a que los métodos, pruebas y condiciones ambientales empleadas para la caracterización difirieron con las empleadas en este trabajo, además que estos hongos son cepas que tienen características especiales, como producto comercial, que los diferencia del común de las especies, por lo que junto a la caracterización realizada es importante se haga la identificación molecular mediante el código de barras de ADN para clasificar taxonómicamente a estas dos cepas (García *et al.*, 2017; Cai & Druzhinina, 2021). Para el caso de *Colletotrichum*, sus características encontradas son similares a las descritas por Sutton (1980); sin embargo, su identificación a nivel de especie según Cai *et al.* (2009) citado por Yu *et al.* (2022) debe hacerse usando un enfoque polifásico y filogenia de multilocus junto con datos morfológicos para la identificación precisa de *Colletotrichum* spp.

La acción antifúngica de *T. harzianum* y *T. viride* encontrado en este trabajo corrobora los reportes de que estos hongos son agentes de biocontrol para numerosas enfermedades postcosecha; por eso, a menudo son empleados como controladores biológicos (John *et al.*, 2010; Nguyen *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2021; Yuan *et al.*, 2022), en función de los metabolitos secundarios y enzimas que producen que son de vital importancia en aplicaciones agrícolas (Salwan *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019b).

La acción antagonica de *T. harzianum* (71.6%) y *T. viride* (62.1%) de inhibición del crecimiento de *Colletotrichum* sp., por micoparasitismo, sin diferencia estadística significativa, observada en este trabajo corrobora el antagonismo y la presencia de uno de los mecanismos por el cual los *Trichoderma* tienen en su capacidad antagonica contra hongos fitopatógenos (Guigón-López *et al.*, 2010). El porcentaje de inhibición producido por *T. harzianum* contra *Colletotrichum* sp. es un porcentaje significativo, considerando que es un valor muy por encima de 50% (Savin-Molina *et al.*, 2021), de 35.07% (Ayón *et al.*, 2020), que se encontró contra *Colletotrichum gloeosporioides*, y cercano a 87.6% contra *Colletotrichum* sp. (Morales *et al.*, 2020), y 78.3% contra *Colletotrichum gloeosporioides* (López *et al.*, 2022).

El porcentaje de inhibición encontrado para *T. viride* contra *Colletotrichum* sp. es un porcentaje similar al de 62% (Savín *et al.*, 2021) que se encontró contra *Colletotrichum gloeosporioides*, pero inferior al de 71.6% de *T. harzianum* evaluado en este trabajo; por lo cual *T. harzianum* aislado del producto TRICHONOVA es un hongo que se debería seguir investigando para optimizar su uso en el biocontrol.

El porcentaje de inhibición producido por *T. harzianum* contra *Colletotrichum* sp. es un porcentaje significativo, considerando que es un valor muy por encima de 50% (Savin *et al.*, 2021), y de 35.07% (Ayón *et al.*, 2020), que se encontró contra *Colletotrichum gloeosporioides*, y cercano a 87.6% contra *Colletotrichum* sp. (Morales *et al.*, 2020), y 78.3% contra *Colletotrichum gloeosporioides* (López *et al.*, 2022).

El efecto de inhibición de la germinación de conidias de *Colletotrichum* sp. por aplicación de la solución de metabolitos de *T. harzianum* (41.3%) y *T. viride* (42.2%), sin diferencia estadística significativa, menor al del fungicida Tebuconazol (92.7%), corrobora que la acción fungicida de los *Trichoderma* también puede ser por metabolitos y que los porcentajes de inhibición encontrados corresponden a este mecanismo, que puede ser aumentado cuando el de parasitismo también interviene como en la prueba de antagonismo por cultivo dual. Estos porcentajes de inhibición de los *Trichoderma* son significativos en comparación a los de 21.33 % (*T. harzianum*) y de 32.37 % (*T. viride*) de inhibición de la germinación

de conidias de *Colletotrichum gloeosporioides* (Nurbailis *et al.*, 2019). Sin embargo, menores a los de 71.12 % (por *T. harzianum*) de inhibición de la germinación de las conidias de *Colletotrichum capsici*, donde se empleó 2000 mg l⁻¹ de solución de metabolitos (Rahman *et al.*, 2011; Saber *et al.*, 2017), y a los de 100% de inhibición de la germinación de conidias de *Colletotrichum sublineolum* (por *T. harzianum* WKY1 y WKY5) (Saber *et al.*, 2017).

La solución de metabolitos obtenidos, por su actividad fungicida, probablemente está formada por una diversidad de metabolitos. Se sabe que en las soluciones de metabolitos de *Trichoderma*, existen varios metabolitos, que en *T. harzianum* se ha encontrado más de 32 metabolitos secundarios con potencial fungicida, uno de ellos fue la trichodermina que inhibe el crecimiento micelial y la germinación de conidias de *Colletotrichum lindemuthianum* y *Colletotrichum gloeosporioides* (Li *et al.*, 2019b; Saber *et al.*, 2017).

Los resultados obtenidos indicaron que el micoparasitismo y la producción de metabolitos secundarios por *T. harzianum* y *T. viride* fueron los mecanismos involucrados en la inhibición del crecimiento micelial y la germinación de conidias de *Colletotrichum* sp. Esto se corrobora con el reporte que *Trichoderma* spp. poseen mecanismos de acción que permiten el control del patógeno mediante la competencia por el sustrato, el parasitismo, la antibiosis, la desactivación de enzimas del patógeno, la penetración y la resistencia inducida (Landeró *et al.*, 2016).

El control de las lesiones de antracnosis de *Colletotrichum* en el fruto del mango por la solución de metabolitos de *T. harzianum* (<50%) y *T. viride* (55.9%), estadísticamente diferentes, corroboran la capacidad fungicida que tienen estos *Trichoderma*. En la que *T. viride*, con mayor capacidad controladora, estadísticamente similar al del fungicida TEBUCONAZOL (64.6 %), tuvo un valor ligeramente mayor al de 57 % ejercido por extractos de *T. piluliferum* que inhibieron el crecimiento de *Colletotrichum museau* en banano (Costa *et al.*, 2021); en la que *T. harzianum* con menor capacidad controladora tuvo un valor menor al de 90 % a más, ejercido por suspensión de conidios de *T. harzianum* que inhibieron el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de aguacate (López *et al.*, 2022).

Por estos resultados, es evidente que *T. viride* tiene un gran potencial para ser empleado como biocontrolador, aplicando sus soluciones de metabolitos para el control de la antracnosis en el fruto del mango. Asimismo, se debe investigar también para el control de la antracnosis en el fruto del mango la aplicación de suspensiones de las conidias de los *Trichoderma*. Ruangwong *et al.* (2021) hacen mención al éxito de las aplicaciones de suspensiones conidiales de *Trichoderma* spp. en el control de diversas enfermedades por hongos en las plantas, que sumergiendo chiles en una suspensión conidial de *Trichoderma koningiopsis* PSU3 – 2 se limitó la infección de *Colletotrichum gloeosporioides* y se pudo controlar la antracnosis.

CONCLUSIONES

La aplicación de soluciones de metabolitos de *T. harzianum* y *T. viride* ejercen acción biocontroladora antifúngica; cuando son aplicados *in vitro*, como inóculo fúngico, y como solución de metabolitos, inhiben respectivamente el crecimiento micelial y la germinación de conidias de *Colletotrichum* sp. significativamente; e *in vivo*, como solución de metabolitos sobre el fruto del mango, controlan la antracnosis de *Colletotrichum* sp.; siendo la solución de metabolitos de *T. viride*, el que ejerce un mayor control comparable al de un biocontrolador que puede ser empleado para controlar la antracnosis en el fruto del mango, sobre todo de exportación.

REFERENCIAS

- Alfiky, A. & Weisskopf, L. (2021). Deciphering *Trichoderma*-Plant-Pathogen Interactions for Better Development of Biocontrol Applications. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(1), 61. <https://doi.org/10.3390/jof7010061>
- Ayón, C. B. C.; Esquivel, G. L.; Velasco, C. R.; Virgen, O. E.; Aranguré, A. B. & Campos, O. J. C. (2020). *In vitro* evaluation of antagonists against soursop fruit pathogens (*Annona muricata* L.) in Nayarit, Mexico. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 42(2). <https://doi.org/10.1590/0100-29452020147>
- Bissett, J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. II. Intrageneric classification. *Canadian Journal of Botany*, 69, 2357 – 2372. <https://doi.org/10.1139/b91-298>
- Bissett, J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section Pachybasium. *Canadian Journal of Botany*, 69, 2373 – 2417. <https://doi.org/10.1139/b91-298>
- Bissett, J.; Gams, W.; Jaklitsch, W. & Samuels, G. J. (2015). Accepted *Trichoderma* names in the year. *IMA Fungus*, 6(2), 263 – 295. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2015.06.02.02>
- Cai, F. & Druzhinina, I. S. (2021) In honor of John Bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. *Fungal Diversity*, 107, 1 – 69. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00464-4>
- Cai, L.; Hyde, K. D.; Taylor, P. W. J.; Weir, B.; Waller, J.; Abang, M. M.; Zhang, J. Z.; Yang, Y. L.; Phoulivong, S.; Liu, Z. Y.; Prihastuti, H.; Shivas, R. G.; McKenzie, E. H. C. & Johnston, P. R. (2009). A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. *Fungal Diversity*, 39(1), 183 – 204.
- Chaverri, P. & Samuels, G. J. (2003). *Hypocrea/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae), Species with green ascospores. *Studies in Mycology*, 48, 1 – 116.
- Da Costa, A. A.; de Miranda, R. F.; Costa, F. A. & Ulhoa, C. J. (2021). Potential of *Trichoderma piluliferum* as a biocontrol agent of *Colletotrichum musae* in banana fruits. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 34, 102028. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102028>
- De la Cruz – Quiroz, R. D.; Roussos, S.; Rodríguez – Herrera, R.; Hernández – Castillo, D. & Aguilar, C. N. (2018). Growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Phytophthora capsici* by native Mexican *Trichoderma* strains. *Journal of modern science*, 4, 237 – 243. <https://doi.org/10.1016/j.kijoms.2018.03.002>
- De los Santos – Villalobos, S.; Guzmán – Ortiz, D. A.; Gómez – Lim, M. A.; Délano – Frier, J. P.; de – Folter, S.; Sánchez-García, P. & Pea – Cabriales, J. J. (2013). Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) T8a as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.). *Biological Control*, 64(1), 37 – 44. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.10.006>
- De Zotti, M.; Sella, L.; Bolzonello, A.; Gabbatore, L.; Peggion, C.; Bortolotto, A.; Elmaghraby, I.; Tundo, S. & Favaron, F. (2020). Targeted Amino Acid Substitutions in a *Trichoderma* Peptaibol Confer Activity against Fungal Plant Pathogens and Protect Host Tissues from *Botrytis cinerea* Infection. *International journal of molecular sciences*, 21(20), 7521. <https://doi.org/10.3390/ijms21207521>

- Filizola, P. R. B.; Luna, M. A. C.; de Souza, A. F.; Coelho, I. L.; Laranjeira, D. & Campos – Takaki, G. M. (2019). Biodiversity and phylogeny of novel *Trichoderma* isolates from mangrove sediments and potential of biocontrol against *Fusarium strains*. *Microbial Cell Factories*, 18, 89. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1108-y>
- Gálvez - Marroquín, L. A.; Martínez – Bolaños, M.; Cruz – Chávez, M. A.; Ariza – Flores, R.; Cruz – López, J. A.; Magaña – Lira, N.; Cruz de la Cruz, L. L. & Ariza – Hernández, F. J. (2022). Inhibition of mycelial growth and conidium germination of *Colletotrichum* sp. for organic and inorganic products. *Agro Productividad*, 15(2), 25 – 32. <https://doi.org/10.32854/agrop.v15i2.2051>
- García – Núñez, H. G.; Martínez – Campos, A. R.; Hermosa – Prieto, M. R.; Monte – Vázquez, E.; Aguilar – Ortigoza, C. J. & González – Esquivel, C. E. (2017). Morphological and molecular characterization of native isolates of *Trichoderma* and its potential biocontrol against *Phytophthora infestans*. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(1), 58 – 79. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1605-4>
- Gu, X.; Wang, R.; Sun, Q.; Wu, B. & Sun, J. – Z. (2020) Four new species of *Trichoderma* in the Harzianum clade from northern China. *MycKeys*, 73, 109 – 132. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.73.51424>
- Guigón – López, C.; Guerrero – Prieto, V.; Vargas – Albores, F.; Carvajal – Millán, E.; Ávila – Quezada, G. D.; Bravo – Luna, L.; Ruocco, M.; Lanzuise, S.; Woo, S. & Lorito, M. (2010). Molecular Identification of *Trichoderma* spp. Strains, in vitro Growth Rate and Antagonism against Plant Pathogen Fungi. *Revista mexicana de fitopatología*, 28(2), 87 – 96. Consultado el 03 de octubre de 2022. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533092010000200002&lng=es&tlng=.
- Hewedy, O. A.; Abdel Lateif, K. S.; Seleiman, M. F.; Shami, A.; Albarakaty, F. M. & M El – Meihy, R. (2020). Phylogenetic Diversity of *Trichoderma* Strains and Their Antagonistic Potential against Soil-Borne Pathogens under Stress Conditions. *Biology*, 9(8), 189. <https://doi.org/10.3390/biology9080189>
- Jaklitsch, W. M.; Samuels, G. J.; Dodd, S. L.; Lu, B. S. & Druzhinina, I. S. (2006). *Hypocrea rufa/Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. *Studies in mycology*, 56, 135 – 177. <https://doi.org/10.3114/sim.2006.56.04>
- John, R. P.; Tyagi, R. D.; Prévost, D.; Brar, S. K.; Pouleur, S. & Surampalli, R. Y. (2010). Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum f. sp. adzuki* and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. *Crop Protection*, 29(12), 1452 – 1459. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.08.004>
- Joshi, D.; Singh, P.; Singh, A. K.; Lal, R. J. & Tripathi, N. (2016). Antifungal Potential of Metabolites from *Trichoderma* sp. Against *Colletotrichum falcatum* Went Causing Red Rot of Sugarcane. *Sugar Tech*, 18, 529 – 536. <https://doi.org/10.1007/s12355-015-0421-y>
- Kamle, M.; Kumar, P.; Gupta, V. K.; Tiwari, A. K.; Misra, A. K. & Pandey, B. K. (2013) Identification and phylogenetic correlation among *Colletotrichum gloeosporioides* pathogen of anthracnose for mango. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2 (3), 285 – 287. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.04.001>
- Khan, R.; Najeeb, S.; Hussain, S.; Xie, B. & Li, Y. (2020). Bioactive Secondary Metabolites from *Trichoderma* spp. against Phytopathogenic Fungi. *Microorganisms*, 8(6), 817. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060817>

- Konsue, W.; Dethoup, T. & Limtong, S. (2020). Biological Control of Fruit Rot and Anthracnose of Postharvest Mango by Antagonistic Yeasts from Economic Crops Leaves. *Microorganisms*, 8(3), 317. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030317>
- Landero – Valenzuela, N.; Lara – Viveros, F. M.; Andrade – Hoyos, P.; Aguilar – Pérez, L. A. & Aguado – Rodríguez, G. J. (2016). Alternatives for the control of *Colletotrichum* spp. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(5), 1189 – 1198. Consultado el 15 de setiembre de 2022. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200709342016000501189&lng=es&tIng=en.
- Li, M. F.; Li, G. H. & Zhang, K. Q. (2019b). Non-Volatile Metabolites from *Trichoderma* spp. *Metabolites*, 9(3), 58. <https://doi.org/10.3390/metabo9030058>
- Li, Q.; Bu, J.; Shu, J.; Yu, Z.; Tang, L.; Huang, S.; Guo, T.; Mo, J.; Luo, S.; Solangi G. S. & Hsiang, T. (2019a). *Colletotrichum* species associated with mango in southern China. *Scientific Reports*, 9, 18891. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54809-4>
- Lima, P. D.; de Oliveira, K.; Vieira, W.; Câmara, M. & de Souza, E. L. (2018). Control of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in guaba, mango and papaya using synergistic combinations of chitosan and *Cymbopogon citratus* (D.C. ex Nees) Stapf. essential oil. *International journal of food microbiology*, 266, 87 – 94. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.018>
- López – López, M. E.; Del – Toro – Sánchez, C. L.; Gutiérrez – Lomelí, M.; Ochoa – Ascencio, S.; Aguilar – López, J. A.; Robles – García, M. A.; Plascencia – Jatomea, M. Bernal – Mercado, A. T.; Martínez – Cruz, O.; Ávila – Novoa; M. G.; González – Gómez; J. P. & Guerrero – Medina, P. J. (2022). Isolation and Characterization of *Trichoderma* spp. for Antagonistic Activity against Avocado (*Persea americana* Mill) Fruit Pathogens. *Horticulturae*, 8(8), 714. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8080714>
- Luo, S.; Wan, B.; Feng, S. & Shao, Y. (2015). Biocontrol of Postharvest Anthracnose of Mango Fruit with *Debaryomyces nepalensis* and Effects on Storage Quality and Postharvest Physiology. *Journal of food science*, 80(11), M2555 – M2563. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13087>
- Marques, E., Martins, I. & Mello, S.C. (2018). Antifungal potential of crude extracts of *Trichoderma* spp. *Biota Neotropica*, 18(1). <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2017-0418>
- Mirza, B.; Croley, C. R.; Ahmad, M.; Pumarol, J.; Das, N.; Sethi, G. & Bishayee, A. (2021). Mango (*Mangifera indica* L.): a magnificent plant with cancer preventive and anticancer therapeutic potential. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(13), 2125 – 2151. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1771678>
- Mo, J.; Zhao, G.; Li, Q.; Solangi, G. S.; Tang, L.; Guo, T.; Huang, S. & Hsiang, T. (2018). Identification and Characterization of *Colletotrichum* Species Associated with Mango Anthracnose in Guangxi, China. *Plant disease*, 102(7), 1283 – 1289. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1516-RE>
- Morales – Mora, L. A.; Andrade – Hoyos, P.; Valencia – de Ita, M. A.; Romero – Arenas, O.; Silva – Rojas, H. V. & Contreras – Paredes, C. A. (2020). Characterization of strawberry associated fungi and *in vitro* antagonistic effect of *Trichoderma harzianum*. *Revista mexicana de fitopatología*, 38(3), 434 – 449. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2005-7>

- Mukherjee, P. K.; Horwitz, B. A. & Kenerley, C. M. (2012). Secondary metabolism in *Trichoderma* – a genomic perspective. *Microbiology (Reading, England)*, 158(Pt 1), 35 – 45. <https://doi.org/10.1099/mic.0.053629-0>
- Mulatu, A.; Megersa, N.; Abena, T.; Kanagarajan, S.; Liu, Q.; Tenkegna, T. A. & Vetukuri, R. R. (2022). Biodiversity of the Genus *Trichoderma* in the Rhizosphere of Coffee (*Coffea arabica*) Plants in Ethiopia and Their Potential Use in Biocontrol of Coffee Wilt Disease. *Crops*, 2(2), 120 – 141. <https://doi.org/10.3390/crops2020010>
- Ngo, M. T.; Nguyen, M. V.; Han, J. W.; Park, M. S.; Kim, H. & Choi, G. J. (2021). In Vitro and In Vivo Antifungal Activity of Sorbicillinoids Produced by *Trichoderma longibrachiatum*. *Journal of fungi(Basel, Switzerland)*, 7(6), 428. <https://doi.org/10.3390/jof7060428>
- Nguyen, Q. T.; Ueda, K.; Kihara, J. & Ueno, M. (2016). Culture filtrates of *Trichoderma* isolate H921 inhibit *Magnaporthe oryzae* spore germination and blast lesion formation in rice. *Advance in Microbiology*, 6(7), 521 – 527. <https://doi.org/10.4236/aim.2016.67052>
- Nurbailis; Djamaan, A.; Rahma, H. & Liswarni, J. (2019). Potential of culture filtrate from *Trichoderma* spp. as biofungicide to *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease in chili. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(10), 2085 – 4722. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d201020>
- Peláez – Álvarez, A.; de los Santos – Villalobos, S.; Yépez, E. A.; Parra – Cota, F. I. & Reyes – Rodríguez, R. T. (2016). Synergistic effect of *Trichoderma asperelleum* T8A and captan 50 ® against *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(6), 1401 – 1412. Consultado el 01 de octubre de 2022. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000601401&lng=es&tlng=en.
- Pereira, G.; Roa, N.; Castillo-Novales, D.; Arriagada, C.; Herrera, H.; Molina – Montenegro, M. & Atala, C. (2021). Mycorrhizal fungi isolated from Chilean orchids as biocontrollers of the pathogen *Rhizoctonia solani*. *Gayana Botanica*, 78(2), 113 – 120. Obtenido de <https://gayanabotanica.cl/index.php/gb/article/view/399>
- PortalFrutícola,com (2022). Agronometrics en Gráficos: Perú impulsa el ingreso de mangos a nuevos mercados. PortalFrutícola,com. Consultado el 02 de setiembre del 2022. <https://www.portalfruticola.com/noticias/2022/06/14/agronometrics-en-graficos-peru-impulsa-el-ingreso-de-mangos-a-nuevos-mercados/>
- Qiao, M.; Du, X.; Zhang, Z.; Xu, J. & Yu, Z. (2018). Three new species of soil– inhabiting *Trichoderma* from southwest China. *MycKeys*, (44), 63 – 80. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.44.30295>
- Rahman, M. A.; Rahman, M. M.; Azad, A. K. & Alam, M. F. (2011). Inhibitory effect of different plant extracts and antifungal metabolites of *Trichoderma* strains on the conidial germination and germ tube growth of *Colletotrichum capsici* causing chili anthracnose. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 1(1), 20 – 28.
- Ramírez – Vigil, E.; Peña – Uribe, C. A.; Macías – Rodríguez; L. I.; Reyes de la Cruz; H. & Chávez – Avilés, M. N. (2020). In vitro growth of *Colletotrichum gloeosporioides* is affected by butyl acetate, a compound

produced during the co-culture of *Trichoderma* sp. and *Bacillus subtilis*. 3 Biotech, 10, 329. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02324-z>

Rifai, A. (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers, 116, 1 – 56.

Rodríguez, M. H.; Evans, H. C.; De Abreu, L. M.; De Macedo, D. M.; Ndacnou, M. K.; Bekele, K. B. & Barreto, R. W. (2021). New species and records of *Trichoderma* isolated as mycoparasites and endophytes from cultivated and wild coffee in Africa. Scientific reports, 11(1), 5671. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84111-1>

Ruangwong, O. U.; Pornsuriya, C.; Pitija, K. & Sunpapao, A. (2021). Biocontrol Mechanisms of *Trichoderma koningiopsis* PSU3-2 against Postharvest Anthracnose of Chili Pepper. Journal of fungi(Basel, Switzerland), 7(4), 276. <https://doi.org/10.3390/jof7040276>

Saber, W. I. A.; Khalid, M; Ghoneem, Y. M. R. & Abdulaziz, A. Al-Askar. (2017). *Trichoderma Harzianum* WKY1: an indole acetic acid producer for growth improvement and anthracnose disease control in sorghum. Biocontrol Science and Technology, 27(5), 654 – 676. <https://doi.org/10.1080/09583157.2017.1321733>

Salwan, R.; Rialch, N. & Sharma, V. (2019). Bioactive Volatile Metabolites of *Trichoderma*: An overview. Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms, 87 – 111. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5862-3_5

Samuels, G. J.; Ismaiel, A.; Mulaw, T. B.; Szakacs, G.; Druzhinina, I. S.; Kubicek, C. P. & Jaklitsch, W. M. (2012). The Longibrachiatum Clade of *Trichoderma*: a revision with new species. Fungal Diversity, 55, 77 – 108. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0152-2>

Savín – Molina, J.; Hernández – Montiel, L. G.; Ceiro – Catasú, W.; Ávila – Quezada, G. D.; Palacios – Espinosa, A.; Ruiz – Espinoza, F. H. & Romero – Bastidas, M. (2021). Morphological characterization and biocontrol potential of *Trichoderma* species isolated from semi – arid soils. Revista mexicana de fitopatología, 39(3), 435 – 451. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2106-7>

Servicio Nacional de Sanidad Agraria (2022). MIDAGRI: Perú exportó más de 240 mil toneladas de mango durante campaña 2021-2022. Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú. Consultado el 25 de agosto del 2022. <https://www.gob.pe/institucion/senasa/noticias/604850-midagri-peru-exporto-mas-de-240-mil-toneladas-de-mango-durante-campana-2021-2022>.

Sivakumar, D.; Tuna Gunes, N. & Romanazzi, G. (2021). A Comprehensive Review on the Impact of Edible Coatings, Essential Oils, and Their Nano Formulations on Postharvest Decay Anthracnose of Avocados, Mangoes, and Papayas. Frontiers in microbiology, 12, 711092. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.711092>

Stracquadanio, C.; Quiles, J. M.; Meca, G. & Cacciola, S. O. (2020). Antifungal Activity of Bioactive Metabolites Produced by *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma atroviride* in Liquid Medium. Journal of fungi (Basel, Switzerland), 6(4), 263. <https://doi.org/10.3390/jof6040263>

Sutton, B. C. (1980). The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Commonwealth

Mycological Institute.

- Tamandegani, P. R.; Marik, T.; Zafari, D.; Balázs, D.; Vágvölgyi, C.; Szekeres, A. & Kredics, L. (2020). Changes in Peptaibol Production of *Trichoderma* Species during In Vitro Antagonistic Interactions with Fungal Plant Pathogens. *Biomolecules*, 10(5), 730. <https://doi.org/10.3390/biom10050730>
- Tovar – Pedraza, J. M.; Mora – Aguilera, J. A.; Nava - Díaz, C.; Lima, N. B.; Michereff, S. J., Sandoval – Islas, J. S.; Câmara, M.; Téliz – Ortiz, D. & Leyva – Mir, S. G. (2020). Distribution and Pathogenicity of *Colletotrichum* Species Associated With Mango Anthracnose in Mexico. *Plant disease*, 104(1), 137 – 146. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0178-RE>
- Valenzuela – Ortiz, G.; Gaxiola – Camacho, S. M.; San – Martín – Hernández, C.; Martínez – Téllez, M. Á.; Aispuro – Hernández, E.; Lizardi – Mendoza, J. & Quintana – Obregón, E. A. (2022). Chitosan Sensitivity of Fungi Isolated from Mango (*Mangifera indica* L.) with Anthracnose. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(4), 1244. <https://doi.org/10.3390/molecules27041244>
- Vos, C. M.; De Cremer, K.; Cammue, B. P. & De Coninck, B. (2015). The toolbox of *Trichoderma* spp. in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease. *Molecular plant pathology*, 16(4), 400 – 412. <https://doi.org/10.1111/mpp.12189>
- Yu, Z.; Jiang, X.; Zheng, H.; Zhang, H. & Qiao, M. (2022). Fourteen New Species of Foliar *Colletotrichum* Associated with the Invasive Plant *Ageratina adenophora* and Surrounding Crops. *Journal of fungi* (Basel, Switzerland), 8(2), 185. <https://doi.org/10.3390/jof8020185>
- Yuan, H.; Yuan, M.; Shi, B.; Wang, Z.; Huang, T.; Qin, G.; Hou, H.; Wang, L. & Tu, H. (2022). Biocontrol activity and action mechanism of *Paenibacillus polymyxa* strain NI4 against pear Valsa canker caused by *Valsa pyri*. *Frontiers in microbiology*, 13, 950742. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.950742>
- Zapata – Narváez, Y. A.; Izquierdo - García, L. F.; Botina – Azaín, B. L. & Beltrán – Acosta, C. R. (2021). Efficacy of microbial antagonists and chitin in the control of *Colletotrichum gloeosporioides* in postharvest of mango cv. Azúcar. *Revista mexicana de fitopatología*, 39(2), 248 – 265. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2102-1>
- Zhang, J. L.; Tang, W. L.; Huang, Q. R.; Li, Y. Z.; Wei, M. L.; Jiang, L. L.; Liu, C.; Yu, X., Zhu, H. W.; Chen, G. Z. & Zhang, X. X. (2021). *Trichoderma*: A Treasure House of Structurally Diverse Secondary Metabolites With Medicinal Importance. *Frontiers in microbiology*, 12, 723828. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.723828>
- Zheng, H.; Qiao, M.; Lv, Y.; Du, X.; Zhang, K. Q. & Yu, Z. (2021). New Species of *Trichoderma* Isolated as Endophytes and Saprobies from Southwest China. *Journal of fungi* (Basel, Switzerland), 7(6), 467. <https://doi.org/10.3390/jof7060467>
- Zhu, Z. – X.; Xu, H. – X.; Zhuang, W – Y. & Li, Y. (2017) Two new green – spored species of *Trichoderma* (Sordariomycetes, Ascomycota) and their phylogenetic positions. *Mycology*, 26, 61 – 75. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.26.14919>