



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA

**“EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y EL EFECTO SINÉRGICO DE  
*TRICHODERMA* SPP., Y FUNGICIDAS SISTÉMICOS Y NO  
SISTÉMICOS PARA INHIBIR EN CONDICIONES *IN VITRO* EL  
CRECIMIENTO DE *FUSARIUM OXYSPORUM*”**

Presentado por

María Fernanda González Mite

Guayaquil - Ecuador

2024

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi esposo, el cual me ha acompañado en todo momento, por su amor, paciencia y compañía incondicional nunca me faltó un consejo oportuno, A mi madre, quien, con su ejemplo, paciencia e infinito amor, me ha hecho la persona humana, íntegra y profesional que soy hoy en día. A mis hijos Christian y Cesar, para que mi esfuerzo les sirva de ejemplo y logren alcanzar sus sueños y crecer cada día más como persona. A mis compañeros y amigos, que siempre estuvieron atentos para apoyarme en lo que fuera necesario, tanto en lo académico como en lo personal.

## DEDICATORIA

A la Escuela Superior Politécnica del Litoral en especial al CIBE, por permitirme realizar la investigación en sus instalaciones. A la Universidad de Guayaquil por su apoyo brindado en el transcurso del programa doctoral. A la Universidad Católica Santiago de Guayaquil por permitirme realizar las pasantías doctorales. Al PhD. Luis Galarza por su guía, paciencia y su constante apoyo durante el desarrollo del programa doctoral. A los Sr(s) Profesores del Programa Doctoral, por su entrega y aporte en mi formación académica. Al Doctor en ciencias agrícolas Ángel Llerena de la universidad Católica Santiago de Guayaquil por su apoyo personalizado

## TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

---

Roberto Burbano Villavicencio PhD.  
DECANO O DELEGADO

---

Efrén Santos PhD.  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

---

Luis Galarza PhD.  
DIRECTOR DEL PROYECTO DE TÍTULACIÓN

---

Juan Manuel Cevallos PhD.  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

---

Milton Barcos Arias PhD.  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL EXTERNO

---

Jonathan Coronel PhD.  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

---

Eduardo Chica PhD.  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL EXTERNO

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

La responsabilidad del contenido de este trabajo de titulación, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Escuela Superior Politécnica del Litoral

María Fernanda González Mite

## GLOSARIO

***Trichoderma spp.*** Es un tipo de hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. Pertenecen a la subdivisión deuteromicetes, que se caracteriza por no poseer o no presentar un estado sexual determinado.

***Fusarium spp.*** Los hongos del género *Fusarium* son ascomicetos filamentosos y cosmopolitas, causan un sinnúmero de enfermedades en cultivos.

**Hongo.** Organismo heterótrofo.

**Control biológico.** Proceso natural en el que se controla la población de patógenos por medio de enemigos naturales.

**Micoparasitismo.** Simbiosis antagónica entre organismos.

**Parasitismo.** Interacción biológica entre organismos de diferentes especies en la que uno de los organismos (el parásito) consigue la mayor parte del beneficio de una relación estrecha con otro, el huésped.

**Antibiosis.** La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos.

**Antagonista.** Es una sustancia, natural, o sintética, que se une a los receptores del organismo en cuestión, bloqueándolos contra la acción de los agonistas y no produce ningún efecto sobre el cuerpo.

**Sinergismo.** Ambas poblaciones salen beneficiadas de la interacción.

**Fungicida.** Son sustancias que se emplean para eliminar o impedir el crecimiento de hongos y mohos perjudiciales para las plantas, o animales.

**Metabolito.** Molécula producto de un proceso químico dentro del metabolismo de un organismo.

**Metabolito secundario.** Es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples.



## INDICE GENERAL

Agradecimientos .....	ii
dedicatoria.....	iii
TRIBUNAL DE GRADUACIÓN .....	iv
DECLARACIÓN EXPRESA .....	v
Glosario.....	vi
INDICE GENERAL.....	viii
INDICE de IMÁGENES.....	x
INDICE de TABLAS .....	xii
ABREVIATURAS.....	xiii
Resumen.....	14
Capítulo 1.....	15
1.1    Banano como fruta mundialmente consumida .....	16
1.2    Importancia de la producción bananera .....	17
1.3    Reducción de la producción bananera .....	19
1.5    Control del patógeno usando fungicidas .....	22
1.7    Problemática .....	25
1.8    Justificación del estudio .....	26
1.9    Objetivo general.....	27
1.9.1.    Objetivo específico 1.....	28
1.9.2.    Objetivo específico 2.....	29
1.9.3.    Objetivo específico 3.....	30
1.10. Introducción .....	31
CAPÍTULO II .....	32
<b>REVISIÓN LITERARIA</b> .....	33
2.2.1    Evidencia sobre el uso de <i>Trichoderma</i> para el control de <i>Fusarium</i> en Ecuador y países exportadores de banano .....	36
2.2.2    Metabolitos secundarios producidos por <i>Trichoderma</i> spp., en presencia de <i>Fusarium</i> spp.....	40
2.3    Fungicidas usados para control de <i>Fusarium</i> en Banano .....	43
<b>CAPÍTULO III</b> .....	45
<b>METODOLOGÍA</b> .....	46
3.1.    Selección de cepas para ensayos <i>in vitro</i> .....	46
3.3.    Características morfológicas de los hongos en estudio .....	46
3.4.    Ensayos de Placa Dual (EPD) para capacidad antagónica.....	47
3.5    Selección de concentraciones mínimas inhibitorias.....	49
3.6.    Determinación del Porcentaje de Inhibición al Diámetro del Crecimiento (PIDC). .....	49
3.7.    Ensayos de sinergismo <i>T. reesei</i> (C2A) en combinación con los fungicidas Mancozeb, Propiconazol y Clorotalonil vs <i>F. oxysporum</i> (F1).....	50

3.8.	Determinación del EC50 (o ED50) de los fungicidas Mancozeb, Clorotalonil y propiconazol.....	51
3.9	Estado del arte de la actividad antifúngica de metabolitos y enzimas de <i>Trichoderma</i> spp., contra <i>F. oxysporum</i> .....	52
<b>CAPÍTULO IV</b> .....		53
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....		54
4.1.	Selección de cepas y especies para ensayos <i>in vitro</i> .....	54
4.4.	Concentración Mínima Inhibitoria de tres fungicidas .....	62
4.5.	Porcentaje de Inhibición de Diámetro de Crecimiento .....	69
4.6	Sinergismo entre <i>T. reesei</i> C2A y cada uno de los tres fungicidas .....	72
Tabla 4.9 Porcentaje de inhibición por ambos agentes: biológico ( <i>T. reesei</i> ) y fungicida (Clorotalonil 0.1%) sobre <i>F. oxysporum</i> (F1). .....		73
4.7.	Determinación del EC50 (o ED50) de los tres fungicidas para el control de <i>F. oxysporum</i> . .....	75
4.8	Revisión bibliográfica de metabolitos secundarios y enzimas con actividad antifúngica .....	76
4.9	Discusión.....	82
4.9.2	Micoparasitismo .....	84
4.9.3	Competencia .....	85
4.9.4	Antibiosis.....	86
4.9.5	Metabolitos Secundarios y enzimas producidas por <i>Trichoderma</i> spp.....	89
4.9.6	Resultados adicionales sobre el uso de <i>Trichoderma</i> spp. y plaguicidas sintéticos.....	91
Conclusiones y Recomendaciones .....		95
Bibliografía.....		97

## INDICE DE IMÁGENES

	<i>Página</i>
Imagen 1.2 Importancia de la producción bananera .....	2
Imagen 2.1 Esquema de control de <i>Fusarium</i> aplicando como control biológico <i>Trichoderma</i> en concentraciones mínimas fungicas .....	17
Imagen 2.2 Hongo <i>Fusarium oxysporum</i> .....	18
Imagen 2.3 Síntomas externos e internos de la enfermedad de la Marchitez por <i>Fusarium</i> causado por <i>Fusarium</i> spp. (A) Síntomas externos con un extenso amarillamiento foliar, (B-C) síntomas internos mostrando el enrojecimiento de los haces vasculares en el pseudotallo.....	19
Imagen 2.4 Cepa de <i>Trichoderma</i> spp.....	20
Imagen 2.5 Metabolitos secundarios asociadas con actividad antifúngica que destacan en las cepas (A) <i>T. harzianum</i> , (B) <i>T. reesei</i> , y (C) <i>T. spirale</i> en el biocontrol contra <i>Fusarium oxysporum</i> .....	25
Imagen 3.1 Diseño de placa dual ilustrado. En Amarillo es el hongo benéfico <i>Trichoderma</i> (C2A), y en verde está <i>Fusarium</i> (F1). .....	29
Imagen 4.1 Aislados de <i>Trichoderma</i> spp., (A) <i>T. reesei</i> (C2A), (B) <i>T. spp</i> (C3A), (C) <i>T. harzianum</i> (C4A) y (D) <i>T. spirale</i> (C10).....	35
Imagen 4.2 Aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> cepas (A) F1, (B) F2 y (C) F3.....	35
Imagen 4.3 Diagrama de medias en una función linear y de las comparaciones Family- Wise con un 95% grado de confianza .....	36
Imagen 4.4 Diametro de crecimiento de <i>F. Oxysporum</i> (F1) confrontado a 4 cepas de <i>Trichoderma</i> spp., <i>T. harzianum</i> , <i>T. reesei</i> , y (C) <i>T. spirale</i> .....	37
Imagen 4.5 Diagrama de medias en relación con el tiempo (Día 1, Día 2 y Día 3) comparando el hongo benéfico C2A y el patógeno F1.....	38
Imagen 4.6 <i>T. reesei</i> (C2A) en observación, a) macroscópica y b) microscópica .....	38
Imagen 4.7 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> F1 observada con objetivo 10X.....	39
Imagen 4. 8 Evolución antagonica desde el día 1 al 7 en PDA.....	41
Imagen 4.9 Gráfico de medias del crecimiento micelial <i>T. ressei</i> (C2A) y <i>F. oxysporum</i> (F1) suplementadas con 4 concentraciones diferentes de Mancozeb (0,1, 0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL) después de 7 días de incubación a 28°C.....	43
Imagen 4.10 Gráfico de medias del crecimiento micelial <i>T. ressei</i> (C2A) y <i>F. oxysporum</i> (F1) suplementadas con 4 concentraciones diferentes de Clorotalonil (0,1, 0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL) después de 7 días de incubación a 28°C.....	45
Imagen 4.11 Gráfico de medias del crecimiento micelial <i>T. ressei</i> (C2A) y <i>F. oxysporum</i> (F1) suplementadas con 4 concentraciones diferentes de Propiconazol (0,1, 0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL) después de 7 días de incubación a 28°C.....	47

Imagen 4.12 PIDC de <i>Trichoderma</i> (C2A) y <i>Fusarium</i> (F1) creciendo solos (A) y cuando están confrontados (B) en presencia de mancozeb 0.1 mg/mL.....	49
Imagen 4.13 PIDC de <i>Trichoderma</i> (C2A) y <i>Fusarium</i> (F1) creciendo solos (A) y cuando están confrontados (B) en presencia de clorotalonil 0.1 mg/mL.....	50
Imagen 4.14 PIDC de <i>Trichoderma</i> (C2A) y <i>Fusarium</i> (F1) creciendo solos (A) y cuando están confrontados (B) en presencia de Propiconazol 0.001 mg/mL	51
Imagen 4.15 Determinación del EC50 de los fungicidas Mancozeb, Clorotalonil y Propiconazol para el control de <i>F. oxysporum</i> .....	55
Imagen 4.16 Principales temas de los artículos científicos que tratan sobre la actividad antifúngica de metabolitos de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Fusarium oxysporum</i> . Los artículos se aplicaron tres motores de búsqueda: Pubmed, Science Direct y Google Scholar.....	57
Figura. 4.17 <i>Trichoderma</i> spp. y su acción combinada de metabolitos secundarios (MSs) y enzimas.....	61

## INDICE DE TABLAS

	<i>Página</i>
Tabla I. Estudios relacionados al uso de <i>Trichoderma</i> spp., como control biológico de <i>Fusarium</i> em Ecuador.....	20
Tabla II. Tabla 2.2 Limitaciones de investigaciones hechas sobre <i>Trichoderma</i> spp. en Ecuador .....	21
Tabla III. Limitaciones de investigaciones hechas sobre <i>Trichoderma</i> spp., en Latinoamerica.....	22
Tabla IV. Porcentajes de crecimiento de <i>Fusarium</i> controlado por <i>Trichoderma</i> spp., en estudios según la revisión literaria .....	24
Tabla V. Fungicidas comerciales usados en el control de hongos que atacan al Banano.....	26
Tabla VI. Escala para evaluación de la capacidad antagónica adaptada de la literatura (Ezziymani et al. 2004).....	30
Tabla VII. Cepas de <i>Trichoderma</i> spp.....	34
Tabla VIII. Porcentaje de inhibición del crecimiento de <i>F. oxysporum</i> (F1) confrontados a 4 cepas de <i>Trichoderma</i> spp.....	37
Tabla XI. Diámetro de crecimiento de <i>T. reesei</i> (C2A) and <i>F. oxysporum</i> (F1)40	40
Tabla X. Resultados de la capacidad antagónica de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Fusarium Oxysporum</i> .....	41
Tabla XI. Diametro de Crecimiento en cm (DE) de los hongos de <i>T. reesei</i> (C2A) and <i>F. oxysporum</i> (F1) con Mancozeb, mostrando las diferencias al comparar letras entre los días 1 y 7 (sig 95%).....	46
Tabla XI. Diámetro de crecimientos en cm (DE) de los hongos <i>Trichoderma</i> (C2A y de <i>Fusarium</i> (F1) con Propiconazol, mostrando las diferencias al comparar las letras entre los días 1 y 7 (sig 95%).....	48
Tabla XII. Porcentaje de inhibición por ambos agentes: biológico ( <i>T. reesei</i> ) y fungicida (Mancozeb 0.1%) sobre <i>F. oxysporum</i> (F1).....	52
Tabla XIII. Porcentaje de inhibición por ambos agentes: biológico ( <i>T. reesei</i> ) y fungicida (Clorotalonil 0.1%) sobre <i>F. oxysporum</i> (F1).....	53
Tabla XIX. Porcentaje de inhibición por ambos agentes: biológico ( <i>T. reesei</i> ) y fungicida (Propiconazol 0.001%) sobre <i>F. oxysporum</i> (F1).....	54
Tabla XX. Metabolitos Secundarios de <i>Trichoderma harzianum</i> con actividad antifúngica .....	60
Tabla XXI. Enzimas asociadas con actividad antifúngica de <i>T. spirale</i> .....	60

## ABREVIATURAS

**FOC R4T** *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* Raza 4 Tropical

**ACB** Agentes control biológico

**CIBE** Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador

**COE** Centro de Operaciones de Emergencia

**C2A** *T. reesei*

**C4A** *T. harzianum*

**C3A** *Trichoderma* spp

**C10** *T. spirale*

**ESPOL** Escuela Superior Politécnica del Litoral

**FAOSTAT** Base de datos estadísticos de la Organización para la Agricultura

**FAO** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

**FOC R4T** *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* Raza 4 Tropical

**FOC1** *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* raza 1

**F1** *F. oxysporum*

**INIAP** Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

**MAG** Ministerio de Agricultura y Ganadería

**MSs** Metabolitos Secundarios

**OGM** Organismo Genéticamente modificado

**PDA** Agar Papa Dextrosa

**PIDC** Porcentaje de Inhibición al Diámetro del Crecimiento

**PIB** Producto Interno Bruto.

## Resumen

*Trichoderma* es un hongo saprófito del suelo que se encuentra distribuido mundialmente y que ha sido ampliamente estudiado por su capacidad para sintetizar metabolitos secundarios con actividad antifúngica y antimicrobiana que parasita a hongos patógenos e interactúa directamente con las raíces de las plantas, induciendo resistencia a enfermedades y tolerancia a estreses abióticos. Una de las enfermedades que *Trichoderma* puede controlar es la marchitez causada por el fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* que también habita el suelo y que se considera una de las enfermedades más dañinas que afectan al cultivo de banano. Las tendencias actuales para controlar enfermedades en los cultivos requieren de soluciones amigables con el medio ambiente que nos permita un manejo integrado para el control de esta enfermedad, por lo cual se busca la aplicación de bajas dosis de fungicidas sintéticos y el uso de agentes de biocontrol como *Trichoderma* spp. Este estudio tuvo como objetivo evaluar en condiciones *in vitro* el efecto sinérgico del agente de control biológico *Trichoderma reesei* aislado C2A combinado con dosis bajas de mancozeb, clorotalonil y propiconazol para inhibir el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* aislado F1. Para realizar los ensayos sinérgicos, se preparó una suspensión de 0.1 mg/mL de mancozeb y clorotalonil en placas con agar PDA; y, para propiconazol se trabajó con una concentración de 0.001 mg/mL. Luego se colocaron discos de *T. reesei* C2A en el centro de las placas Petri, lo cual se incubó durante 7 días a 28°C. Los resultados mostraron que la capacidad micoparasítica de la cepa de control biológico para inhibir el crecimiento micelial de *F. oxysporum* F1 evidencia el sobrecrecimiento hacia el patógeno inhibiendo alrededor de 53% (máximo) al 23% (mínimo) del crecimiento micelial de *F. oxysporum* en comparación con las placas de control. También evidenciamos la tolerancia de *Trichoderma* a los fungicidas en las concentraciones usadas. Aunque estos resultados son prometedores, se necesitan estudios futuros en condiciones de invernadero y de campo para corroborar la efectividad de este enfoque.

**Palabras claves:** Control biológico, fungicida, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma reesei*, concentración mínima inhibitoria, efecto sinérgico

# Capítulo 1

## 1. Introducción

## 1.1 Banano como fruta mundialmente consumida

El Banano es una fruta que crece en áreas tropicales de más de 130 países alrededor del mundo, a grande, mediana o pequeña escala, y es enormemente valorada por consumidores de todos los continentes debido a sus propiedades nutritivas y su particular sabor (Van Asten 2012). La producción y exportación contribuye enormemente al desarrollo de países con economías agrícolas (Arias et al. 2003). Su facilidad de consumo es una de las cualidades de la fruta ya que su pulpa está recubierta por una cascara semi-gruesa con cortes triangulares y la cual es fácil de retirar. La pulpa de la fruta es amarilla, de forma alargada, de textura suave, de sabor dulce y cuyo contenido de almidón es alto y tiene un tamaño entre 10 a 14 cm. Los nutrientes que se encuentran en la pulpa incluyen minerales como el magnesio, potasio, ácido fólico y sustancias astringentes, también ofrece un elevado aporte de fibra, del tipo fruto-oligosacáridos. Es un producto reducido en grasas y en proteínas. Además, posee betacaroteno, vitaminas del grupo B y C, además de vestigios de vitamina E importantes dentro de la dieta alimenticia del ser humano (Campuzano, Rosell, and Cornejo 2018).

Según análisis de muestras de banano en el 2019 (U.S. Department of agriculture 2019) su contenido de agua es de 75% y provee de 113 kcal por fruta. Tiene 23% de carbohidratos 4.5% de fibra total, 15.8% de azúcares, y 3.6% de almidones. Los ácidos orgánicos que prevalecen son ácido cítrico y málico con 341 y 369 mg/100 g. Su contribución en potasio, fosforo y magnesio son 326, 22, 28 mg/100 g. Su alto contenido de vitamina C (12.3 mg/100 g) es su atractivo para recomendaciones nutricionales, seguido por su contenido de folatos 14 µg/ 100g, y alfa y betacarotenos (8 µg).

La fruta proviene de una planta tropical (*Musa acuminata*) con un pseudotallo muy alto, flores que dan racimos, y la planta no tiene ramificaciones, más bien sus hojas están dispuestas en forma de espiral que brotan en forma de cigarro y que “constituyen un haz apical, provistas de pecíolo corto y grandes láminas oblongas, con fuerte nerviación central, flores amarillas y puede alcanzar hasta 9 metros de altura” (Aquino et al. 2017). Las variedades de banano documentadas alcanzan hasta 1000 variedades, pero la de mayor consumo mundial (47% del banano) es el tipo *Cavendish*.

Es relevante mencionar que las plantas de banano son cultivos perennes y que pueden cosecharse sus frutos durante todo el año. El tiempo desde la floración hasta la presentación del racimo es de aproximadamente entre 80 y 180 días que tarda en desarrollarse por completo hasta llegar a las condiciones ideales de producción y en total puede generar de 300 a 450 frutos por espiga (Barreiro 2017). La especie *Musa acuminata* es nativa de la región Indomalaya tropical y de Australia, que acorde a estudios históricos es muy probable que su producción se haya domesticado en Papúa Nueva Guinea alrededor del siglo V extendiéndose a las Islas Canarias en el siglo XV y de allí llegó a América en 1516, alcanzando en la actualidad su producción en 139 países y un alto consumo a nivel mundial. Su hábitat de desarrollo óptimo son principalmente las regiones tropicales y subtropicales, así sus principales productores para el 2019 son: Ecuador, Filipinas, Costa Rica, Colombia y Guatemala. Según las regiones de Vavilob la especie pertenece al 3 grupo, donde en el centro Indomalaya contiene la más alta diversidad de parientes silvestres, lo que significa que las plantas están menos domesticadas y guardan una diversidad genética que pueden protegerlos de ataques fúngicos (do Norte et al. 2019).

## 1.2 Importancia de la producción bananera



**Figura 1.2.** Importancia de la producción bananera

**Fuente:** Autor

Las exportaciones mundiales de banano consumido como fruta, excluyendo los bananos para cocinar, alcanzaron un máximo histórico de “19,2 millones de toneladas en 2018, gracias al amplio crecimiento de la oferta mundial y para el 2019 se incrementó su consumo en 8,4%” (FAO 2019a). Las cifras relativas al año completo indican un crecimiento de los envíos mundiales del “5,7 % (2018) en comparación con 2017, que obedeció sobre todo al fuerte crecimiento de la oferta en los dos principales exportadores, esto es, el Ecuador y Filipinas. De esta forma, durante el período 2017 a 2019 la producción bananera ha mantenido su consumo y producción un crecimiento constante” (TradeMap 2019).

Mientras tanto, las exportaciones de Ecuador, el mayor proveedor de banano a nivel mundial, se expandieron en un 2%, llegando a los 6.6 millones de toneladas en 2018, gracias a las condiciones climáticas favorables y las inversiones exitosas en la expansión de la producción, acompañado de tecnologías agrícolas que mejoraron el rendimiento del sector. Además, los envíos desde Ecuador también continuaron beneficiándose de las reducciones arancelarias en función de los acuerdos entre la Unión Europea y los países de la región andina durante el 2018, que facilitaron las entradas al mercado de la Unión Europea a una tasa reducida de 96 EUR por tonelada durante todo el año.

Los datos preliminares indican que la participación de Ecuador en los mercados mundiales de banano fue del 34% en 2018. Por su parte, las exportaciones de Guatemala, el segundo exportador líder en la región, se mantuvieron casi sin cambios durante el 2018, en comparación con una expansión del 9% en el 2017. Las condiciones climáticas más frías

afectaron la producción y obstaculizaron el ritmo de crecimiento; sin embargo, Guatemala logró posicionarse como el tercer exportador mundial de banano a nivel mundial, detrás de Ecuador y Filipinas, con una participación de volumen aproximada del 12%, equivalente a 2,4 millones de toneladas.

Las exportaciones asiáticas continuaron mostrando una recuperación saludable frente a la escasez de producción inducida por el clima durante el 2015 y 2016 y alcanzaron 3,7 millones de toneladas en 2018, lo que representa un aumento de casi el 90% en comparación con el 2017, cuando se ubicaron en 1,9 millones de toneladas. El aumento se debió principalmente al fuerte crecimiento de la producción en Filipinas, donde las exportaciones aumentaron más del doble desde 2017, llegando a 3,4 millones de toneladas en 2018. La producción de banano en Filipinas se vio afectada por una serie de condiciones adversas entre 2015 y 2017, que en respuesta se generaron inversiones significativas hacia el incremento de áreas agrícolas, nuevas tecnologías y mejores insumos productivos. Así, Filipinas se ubica como el mayor exportador de Asia, gracias al sólido desempeño en 2018, recuperando su lugar como el segundo mayor proveedor de banano sólo detrás de Ecuador, con una participación en el volumen total del 18% de los envíos mundiales.

### 1.3 Reducción de la producción bananera

Las condiciones atmosféricas adversas afectan la producción de banano teniendo un efecto de decline en los envíos de otros proveedores importantes durante el 2018, entre los que cabe destacar que en el continente americano Costa Rica y Guatemala, vieron mermada su capacidad productiva y una reducción directa de sus ingresos por exportaciones de dicho producto.

Los envíos desde Colombia, actualmente el cuarto proveedor más grande a nivel mundial, cayeron un 7,2%; llegando apenas a exportar 1,7 millones de toneladas en 2018, lo que equivale a aproximadamente el 9% del total de las exportaciones mundiales. A pesar de los esfuerzos exitosos para aumentar la producción dentro del país por medio de una expansión agraria, además del incremento en la productividad relacionada con el uso de mejor tecnología, que se vieron obstaculizadas por interrupciones relacionadas con la huelga en los enlaces de transporte nacionales.

Pero, actualmente uno de los factores de mayor incidencia son las plagas, si bien no está en peligro de extinción, los cultivos de *Cavendish* (de mayor consumo en Europa y América) podrían volverse inviables para su cultivo a gran escala en los próximos 30 años según la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). Proceso que ya sucedió históricamente con el tipo *Gros Michel*, descubierto en la década de 1820, y extinto de los procesos de exportación a finales de 1950.

Como casi todos los bananos, el *Cavendish* carece de diversidad genética, lo que le hace vulnerable a las enfermedades, amenazando tanto el cultivo comercial como a la agricultura de subsistencia a pequeña y gran escala. Prueba de esto, son las pérdidas anuales durante el 2018 de “178 millones de dólares por banano contaminado y no apto para exportación por plagas” (FAO 2019b). Y dentro de este aspecto, es relevante mencionar al *F. oxysporum*, que acorde a la FAO es el agente causante del “89% de las pérdidas de producción bananera del mundo durante el 2018 y 2019” (FAO 2019b).

Las exportaciones de América Latina y el Caribe experimentaron una disminución del 4% en 2018, llegando a 14,7 millones de toneladas, debido principalmente a la escasez de producción inducida por el mal clima en Costa Rica, estado que es uno de los cuatro principales exportadores de la región. Después de un año récord en 2017, las exportaciones de Costa Rica disminuyeron un 31% en 2018, llegando a 770.000 toneladas, de un estimado anual de 1,7 millones de toneladas.

Las exportaciones del Caribe cayeron a un estimado de 130.000 toneladas en 2018, una disminución del 8,3% en comparación con 2017. Efecto dado por las interrupciones severas a la producción, relacionado con el clima en la República Dominicana, país que representa aproximadamente el 90% de las exportaciones de la región.

Las exportaciones de África cayeron un 9% por debajo del nivel de 2017, a unas 780.000 toneladas, luego de diferentes interrupciones significativas en la producción de Camerún. Así, los disturbios civiles prolongados en el país causaron interrupciones

significativas en las exportaciones, que en consecuencia disminuyeron en un 25% en el 2018, a un estimado de 210.000 toneladas. Mientras tanto, los envíos desde Costa de Marfil disminuyeron un 2,6% desde su máximo de 387.000 toneladas en 2017 a 377.000 toneladas en 2018. También, las exportaciones de banano en Mozambique se mantuvieron en aproximadamente 90.000 toneladas a pesar de las preocupaciones por las interrupciones en la producción causadas por plagas a los cultivos.

Según la base de datos estadísticos corporativos de la Organización para la Agricultura y la Alimentación FAOSTAT la producción de banano de Ecuador en el 2019 fue de 6.5 millones de toneladas cayendo a 6.0 millones de toneladas en el 2020. Una de las causas es la pandemia de COVID-19 cuando los canales de exportaciones fueron interrumpidos. Cabe mencionar que los conflictos entre Estados Unidos, Europa, Asia y Rusia también afectan a las exportaciones (Nurse 2015). En el 2022, la guerra declarada de Rusia a Ucrania afectó al 10 % de las exportaciones totales de banano de Ecuador a Rusia (Gabriela Coba 2022). Sumando el bajo rendimiento por hectárea de banano debido a los fenómenos climáticos, y a las restricciones por el uso de moléculas químicas. Para el control de plagas y enfermedades, el incremento de costos en insumos, y además la logística costosa los registros de pérdidas fueron muy altos después de la pandemia del COVID-19.

#### **1.4 El género *Fusarium* como fitopatógeno**

Los cultivos de banano son particularmente susceptibles a problemas fitosanitarios (particularmente hongos) ya que la mayoría se cultivan en los trópicos (Chabi et al. 2018). En la década de los sesenta, el cultivo y la industria bananera experimentaron pérdidas dramáticas debido a la epidemia de la marchitez por *Fusarium*, ocasionada por *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC 1) (Bubici et al. 2019).

En esa época, la industria bananera experimentó pérdidas significativas y devastadoras para el comercio bananero debido al ataque del fitopatógeno *Fusarium* y su permanencia en el suelo (Bubici et al. 2019; Jegert et al. 1996). *F. oxysporum* es un hongo identificado como patógeno que habita en el suelo y causa marchitez en algunas plantaciones incluyendo las de banano (Pastrano 2018). La patogenicidad para hospedar cultivares en el campo es la que define la raza fisiológica FOC1 es patógena para *Gros Michel*, FOC2 Bluggoe FOC3 *Heliconia* spp., y FOC4 *Cavendish* y todos los cultivares susceptibles a FOC1-FOC2 (Groenewald et al. 2006; Dong and Wang 2011).

La marchitez por *Fusarium* fue conocida en el Ecuador desde 1936, en las plantaciones de la United Fruit en Tenguel (Gondard and Pierre 1986). En la actualidad es una de las enfermedades más destructivas de este cultivo, devastó los intercambios comerciales de exportación basados en *Gros Michel* antes de mediados del siglo XX. La marchitez por *Fusarium* se está extendiendo actualmente en las regiones de cultivo de bananos en todo el mundo, la región colombiana del Caribe implica la presencia de esta plaga y declaró estado de emergencia fitosanitaria en el territorio nacional por la presencia de la enfermedad también conocida como marchitez de las musáceas por FOC R4T (Carvalhais et al. 2019; Gondard and Pierre 1986; ICA 2019).

El ataque de *F. oxysporum* posee diferentes formas de afección a la planta que colectivamente infectan los hospederos y que dentro de la estructura del hongo forma clamidosporas que pueden sobrevivir en estado de dormancia por muchos años cuando las

condiciones del suelo son favorables. Así, los exudados secretados por raíces de plantas establecidas en un suelo infestado estimulan al crecimiento y propagación de *F. oxysporum*; al contrario de otros géneros fúngicos; ante lo cual, este patógeno ingresa directamente en las raíces de las plantas, utilizando varias sustancias enzimáticas y generando micotoxinas. Después de ingresar a las células de la epidermis, “el micelio del hongo atraviesa el córtex inter o intracelularmente hasta alcanzar los tejidos vasculares (xilema)” (Pastrano 2018).

Cuando alcanza estos tejidos, el patógeno rápidamente se transporta hacia arriba y coloniza verticalmente las células del xilema de los segmentos superiores. Estos procesos producen en la planta síntomas como defoliación, marchitez, descoloración vascular y muerte. Sin embargo, esta respuesta depende de la raza fisiológica del patógeno, genotipo, además del agente infectado lo cual se puede evidenciar por síntomas. En interacciones incompatibles (lo que se denomina resistencia), la infección o colonización del hospedero por el patógeno puede ser impedida o retardada, a causa de varios mecanismos de defensas bioquímicos y moleculares. El uso de genotipos resistentes de plantas es una de las estrategias más importantes y recomendadas de manejo de esta enfermedad a nivel de la agricultura. Por lo tanto, es imprescindible conocer la interacción *F. oxysporum* frente a la planta, ya que de esta manera se pueden desarrollar tácticas de manejo de la marchitez del *Fusarium*.

El marchitamiento ocasionado por *F. oxysporum* sigue siendo una preocupación latente desde el punto de vista agrícola y económico por ser el taxón más importante de su especie constituyendo una amenaza para la producción de musáceas en el Ecuador causando pérdidas considerables en la producción y exportación ya que representa uno de los rubros más importantes del país, en la actualidad mantiene preocupados a la industria bananera debido a que este hongo tiene la facilidad de expandirse causando la erradicación de los cultivos de banano en el mundo por estar considerada entre las diez enfermedades más importantes en la historia de la agricultura (Echegoyen 2013).

## 1.5 Control del patógeno usando fungicidas

Cuando el uso de plantas tolerantes o resistentes no es rentable ya que las plantaciones ya están establecidas con *Cavendish*, se tiende a usar fungicidas y esterilizantes los cuales son usados de manera de polvo, disueltos o es spray, emulsiones, granulados y soluciones con diferentes concentraciones (Nel et al. 2007). La aplicación de controles químicos incluye fungicidas sintéticos como el propiconazol, procloraz, benomil, imidazoles y triazoles, adicional a esto se han estudiado mezclas de fungicidas con glifosato pero el patógeno no siempre es eliminado, pudiendo esporular en los tejidos necrosados debido a su capacidad saprofítica, y también se presentan estudios de sensibilidad los cuales indican que los benzimidazoles tienen un alta actividad biológica preventiva contra las especies de *Fusarium* (Martinez L 2016; Dita, Echegoyén, and Pérez 2017). A pesar de que la aplicación de fungicidas sistémicos es de mayor eficacia, cuando se habla del control de hongos patógenos, la evidencia sugiere que los compuestos sintéticos como benomyl, clorotalonil, captan, mancozeb, maneb y propiconazol son altamente peligrosos para la salud humana y además causan daños irreversibles en el ambiente (Chabi et al. 2018; Kleinstreuer et al. 2013).

Mancozeb es un ditiocarbamato no-sistémico de alto espectro, usado en la agricultura para el control de hongos patógenos incluyendo los ascomicetes, omicetes y basidiomicetes (Gullino et al. 2010; Runkle et al. 2017). Clorotalonil es un fungicida de contacto de alto espectro (Washington, 1998), mientras que propiconazol es por otro lado un fungicida sistémico con altísimo espectro. Este último es un triazol que ofrece como beneficio la prevención de que la contaminación se esparza ya que inhibe la síntesis de las paredes celulares del hongo (J. Xu et al. 2019). Estos fungicidas han sido usados en el control de sigatoka negra y es por esto por lo que se sugieren para el uso en el control de la marchitez por *Fusarium* (ibid.).

Clorotalonil (tetracloroisofthalonitrilo) y mancozeb (complejo de etilenbis de manganeso (ditiocarbamato) (polimérico) con sal de zinc) son inhibidores enzimáticos multi-sitio que actúan como fungicidas protectores de amplio espectro (C. Yang et al. 2011). Ambos son fungicidas preventivos no sistémicos que forman una barrera protectora en la superficie de la planta contra la germinación de esporas e inhiben el desarrollo de patógenos (Gisi and Sierotzki 2008a; C. Yang et al. 2011). Por otro lado, propiconazol (2RS 4RS;2RS,4SR)-1-[2-(2,4-diclorofenil)-4-propil-1,3-dioxolano-2- ilmetil]-1H-1,2,4-triazol)) pertenece a un grupo de fungicidas sistémicos que desestabilizan la integridad de la membrana celular y afectan la biosíntesis de ergosterol a través de la inhibición de la metilación de C14 (C. Yang et al. 2011). Los fungicidas sistémicos se adsorben en las hojas y pasan a través del xilema, protegiendo así a la planta controlando los patógenos circulantes (ibid.).

Se sabe que el control químico puede ser combinado con productos de control biológico como es el caso de especies del género *Trichoderma*, por lo que se han realizado estudios *in vitro* y en invernaderos con el uso combinado con material de siembra (vitro plantas) libre de la enfermedad adicionando *Trichoderma harzianum* (Pérez-Vicente 2016) con el propósito de incluirlos como una estrategia de manejo integrado del cultivo de banano.

## 1.6 Control biológico de *Trichoderma* frente a *Fusarium*

En la actualidad, los sistemas biológicos están adquiriendo más relevancia que el control químico de los patógenos (Kannan and Sureendar 2009a) debido al uso cotidiano de fungicidas los cuales causan afectaciones al medio ambiente siendo esta una práctica ambiental con suficiente evidencia de los riesgos que se manifiestan con el uso excesivo e indiscriminado de estos fungicidas, por lo que existe la necesidad del uso racional y de aplicar medidas de mitigación ante los efectos causados a la salud y al medio ambiente para poder encontrar alternativas contra la marchitez por *Fusarium* (del Puerto Rodríguez, Suárez Tamayo, and Palacio Estrada 2014). Una de las principales alternativas para el control de hongos patógenos como es el caso de *F. oxysporum* en plantaciones de banano *Cavendish*, es el uso de hongos benéficos que mediante sus diferentes mecanismos de acción pueden ejercer control, siendo beneficioso tanto para la planta como para el suelo.

Entre los diferentes microorganismos benéficos usados como agentes control biológico (ACB) las cuales han sido ampliamente estudiadas y documentadas, se encuentran las especies del género *Trichoderma*, este hongo es considerado un potencial hongo oportunista (Druzhinina, Shelest, and Kubicek 2012) y se destaca como una de las cepas más utilizadas para el biocontrol de patógenos fúngicos del suelo (Infante et al. 2009), mostrando efectos positivos de la inoculación de plantas con *Trichoderma* spp. (Cano 2011). Existen alrededor de 200 especies que están generalmente distribuidas en suelos y alrededor del mundo que son consideradas para su potencial uso como control biológico (Röhrich et al. 2014).

Este hongo benéfico se encuentra presente comúnmente en los suelos agrícolas, y que pertenece a la subdivisión *Deuteromycete*. Actualmente, es muy popular y está siendo utilizado en la agricultura como agente de control biológico debido a sus propiedades como “biopesticida, biofertilizante y bioestimulante” (Ulloa 2018). Existen varias especies de *Trichoderma*, con muchas características las cuales van desde colonizar las raíces de una amplia variedad de plantas y así como desarrollar mecanismos para atacar y parasitar a otros hongos, logrando reducir la infección de fitopatógenos como la marchitez del banano ocasionada por *F. oxysporum*.

Según la morfología, las diferentes especies de *Trichoderma* se han clasificado en cinco secciones: *Saturnisporum*, *Pachybasium*, *Longibrabiatum*, *Trichoderma Hypocreanum* (Zin and Badaluddin 2020). Actualmente, para determinar los diferentes grupos funcionales dentro de *Trichoderma* spp., se utilizan nuevas herramientas moleculares que implican el uso de diferentes genes para una identificación precisa. Por otro lado, las especies de este hongo benéfico poseen diferentes mecanismos de acción sobre los patógenos como el micoparasitismo y la producción de metabolitos activos y enzimas líticas (Abdelrahman et al. 2016; Vinale et al. 2014a). El micoparasitismo, contempla la capacidad de parasitar a los hongos, es una característica única de *Trichoderma*, ya que pueden parasitar incluso especies taxonómicamente cercanas (Röhrich et al. 2014). La actividad antifúngica de *Trichoderma* contra hongos fitopatógenos se atribuye a la acción combinada de metabolitos secundarios (MSs) y enzimas hidrolíticas, es decir, celulasas, proteasas, quitinasas y xilanasas (Abdelrahman et al. 2016; R. A. A. Khan et al. 2020a; Tchameni et al. 2020). Alrededor de 500,000 metabolitos secundarios han sido descritos, de los cuales 15,600 (47 %) son fúngicos (Li, Li, and Zhang 2019). Entre ellos *T. harzianum* T4 (con seis metabolitos), T5 (con siete metabolitos), T22 y T39 (seis metabolitos) tienen acción antifúngica siendo el harzianopyridona el metabolito secundario más activo producido por todos ellos. Metabolitos de *Trichoderma reesei* comprenden seis compuestos los cuales son cyclonerodiol (92); 8,9-dihydroxymegastigmatrienone; harzialactone A; 3,6- dibenzylpiperazine-2,5-dione; 3-isobutyl-8-hydroxyl-pyrrolo-piperazine-2,5-dione; y 3- benzyl-8-hydroxyl-pyrrolo-piperazine-

2,5-dione son los más reconocidos (Li, Li, and Zhang 2019). *Trichoderma* se ha caracterizado como un control biológico adecuado debido a que su potente acción colonizadora es afectada mínimamente por fungicidas de contacto (Dinkwar et al 2023).

Para este estudio nos hemos enfocado en las especies de *Trichoderma* spp., que tienen efectos de control biológico frente a *Fusarium* en el caso particular del banano. Existen seis estudios en Ecuador, que han usado *Trichoderma* spp., como control de *Fusarium* en banano donde resultados positivos se han encontrado con control de crecimiento desde 78% hasta 54% (Maria F. González, Galarza, and Hidalgo 2021).

## 1.7 Problemática

*Fusarium* agente causal de la marchitez que causa al banano uno de los problemas fitosanitarios más sobresalientes del efecto patogénico de este hongo, causando grandes pérdidas económicas porque su afectación a la producción es considerada devastadora para la planta. Las exportaciones disminuyen y así su aporte al PIB y la economía del país. Se sabe que existen variedades de bananas resistentes, pero para los cultivos ya existentes, las prácticas más comunes son las de uso de fungicidas y en menor proporción el uso de control biológico como el de *Trichoderma* spp.

En el 2021, se concedió en Ecuador una audiencia al Clúster Bananero y Platanero del Ecuador en la Gobernación del Guayas para informar sobre los retos del sector bananero y de la “nefasta” amenaza que podría resultar si el *Fusarium* FOC R4T ingresa al país. El COE Nacional, con celeridad y operatividad, convocó a todas las instituciones públicas del gobierno central así como de los gobiernos descentralizado, para que creen alianzas con la académica y con los actores privados, para que se sustenten reuniones de trabajo *in situ* en las que se estudien todas las acciones eficaces que se debían realizar, identificando las responsabilidades de cada uno de los participantes, elaborando el plan de trabajo denominado “Estrategia nacional para la prevención, detección y control de la plaga FOC R4T. Así, el Ecuador ha establecido los lineamientos de preparación, emisión de alerta, flujo de la investigación y la implementación de resoluciones para mejorar las acciones consideradas en el Plan Nacional de Contingencia para el FOC R4T. Con fecha 2 de julio de 2021, el Ministerio de Agricultura y Ganadería corrobora que el hongo *Fusarium* R4T no se encuentra actualmente en el Ecuador y abordó la conformación del Comité Interinstitucional de Trabajo para la Prevención del Ingreso al país del *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Raza 4 Tropical (FOC R4T) (Agrocalidad 2021).

El 23 de julio del 2021, el COE Nacional resolvió admitir la resolución presidencial en participación de las mesas técnicas y delante de la plenaria del comité aborden las diferentes problemáticas vinculadas con la amenaza de la plaga *Fusarium* Raza 4 por considerarse un potencial riesgo para el sector bananero y su efecto en la actividad productiva y en las diferentes plazas de trabajo, que en el contexto de la pandemia tendría impactos económicos significativos del país. Al respecto, se dispuso la participación del Ministerio de Agricultura y Ganadería en las plenarios del COE Nacional. En este sentido, se activan las diferentes Mesas Técnicas de Trabajo Provinciales FOC R4T para gestionar los riesgos inherentes a la amenaza e identificar sus impactos. En las mesas técnicas la necesidad de tener a la mano información proveniente de sólidos estudios científicos para prevención y control la cual fue concluyente. Esto está alineado mediante Acuerdo Ministerial 142 se expide el Plan Nacional de Contingencia para la Prevención, Detección y Control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Raza 4 Tropical (FOC R4T).

## 1.8 Justificación del estudio

El banano es una fruta mundialmente consumida y es la razón por la que aporta a la nutrición de millones de personas que la consumen, y su producción aporta enormemente al crecimiento económico de los países productores. En este sentido, es de suma importancia el control sobre el crecimiento de este agente patógeno del suelo en las plantaciones de *Musa* spp., evitando así pérdidas a los productores, la economía, consumidores y para el medio ambiente.

En la actualidad, “existen alrededor de 365.552 hectáreas de musáceas cultivadas en el Ecuador (orito, banano, plátano y abacá); el banano representa el 12% de la fuente de trabajo en el país. La exportación de banano representó en divisas el 24% de las exportaciones no petroleras durante el año 2020 y ocupa el primer lugar en cuanto al volumen de embarques. Esto implica que de cada dólar que se recibe por comercio exterior, \$ 0,25 provienen de la venta de banano al extranjero; con una característica especial: el banano ecuatoriano llega a todas las zonas geográficas del planeta”. (Agrocalidad 2021; Muñoz Wilfrido, Morejón Darwin, and Guerrero Andrés 2021).

Buscando métodos más efectivos para controlar patógenos, los microorganismos de la rizosfera que son promotores del crecimiento de las plantas han sido utilizados en combinación con pesticidas químicos por estudios experimentales recientes (Gonzalez et al. 2020; Peláez - Álvarez et al. 2016).

Así, la hipótesis de esta investigación es de que: “Si la capacidad inhibitoria del agente benéfico *Trichoderma* spp., como control biológico sobre *F. oxysporum* ejerce sinergia en presencia de varias concentraciones de principios activos de fungicidas comerciales como Mancozeb, Propiconazol y Clorotalonil considerando el rápido crecimiento de ambos hongos y la producción de metabolitos por las cepas de *Trichoderma* spp.

## **1.9 O b j e t i v o general**

Analizar la capacidad de *Trichoderma* spp., de ejercer control frente a *F. oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1 mediante pruebas de sinergismo con fungicidas para determinar la combinación ideal del hongo benéfico y de la molécula química.

### **1.9.1. Objetivo específico 1**

Evaluar la capacidad antagónica y micoparasitaria por medio de ensayos duales en placa *Petri* usando un índice de antagonismo para reportar el grado de invasión del hongo benéfico sobre el patógeno.

## **1.9.2. Objetivo específico 2**

Determinar el sinergismo que produce el efecto de combinar la capacidad acción de *Trichoderma* spp., en presencia de tres diferentes fungicidas comerciales en concentraciones mínima inhibitoria al invadir *Fusarium oxysporum* por medio de ensayos *in vitro*.

### **1.9.3. Objetivo específico 3**

Evaluar el estado del arte de los metabolitos producidos por especies del género *Trichoderma* y los fungicidas responsables de la actividad antifúngica frente a *Fusarium oxysporum*.

## 1.10. Introducción

Este documento de tesis está estructurado bajo conceptos enmarcados en el control de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 y el potencial uso de un agente de control biológico en combinación de un fungicida. El alcance de este trabajo de investigación se presenta en diferentes capítulos donde el estado del arte, conceptos y metodologías empleadas están detalladas para llegar al objetivo final. La justificación del estudio está presente en el Capítulo I, así como también los objetivos de la misma. El proceso de investigación inicia con una revisión de literatura para saber cuáles son las metodologías más adecuadas para la determinación de inhibición de crecimiento de *F. oxysporum* con el uso de agentes biológicos y químicos (Capítulo II). Estos aspectos metodológicos incluyen técnicas cualitativas y cuantitativas, ya que es importante poder sustentar los resultados con análisis de indicadores cualitativos y con pruebas estadísticas que demuestren el comportamiento del hongo y su crecimiento. Dentro de las técnicas cualitativas tenemos la observación del crecimiento del hongo benéfico y del patógeno, para su identificación micro y macroscópica (Capítulo III). Esto permite al investigador estar familiarizado con el hongo y su crecimiento al momento de medir sus diámetros de crecimiento al confrontarse. Para determinar el grado de inhibición del hongo patógeno confrontado al hongo benéfico en un rango de tiempo se utilizó como indicador el índice de antagonismo (Capítulo III). Todo lo anterior permite realizar un subsecuente estudio cuantitativo usando el diámetro de crecimiento en ensayos de placa dual de cada hongo por separado para saber que concentración de cada fungicida es la ideal para que no se detenga el crecimiento del hongo benéfico *Trichoderma* spp., y que se inhiba al patógenos que es *F. oxysporum* (Capítulo III). Consecuentemente, se mide la inhibición en el diámetro de crecimiento de *F. oxysporum* cuando esta confrontado con *Trichoderma* spp., para reportar si hay diferencias significativas en la reducción del crecimiento de *F. oxysporum* confrontado a *Trichoderma* spp. Finalmente, se determina cuantitativamente el sinergismo logrado por la acción de *Trichoderma* spp., y un fungicida comercial sobre el hongo patógeno de *F. oxysporum*. Además, se realizó una revisión de literatura sobre los metabolitos secundarios de *Trichoderma* spp., como agente de biocontrol y actividad antifúngica de tres fungicidas comerciales Mancozeb, Propiconazol, y Clorotalonil que suelen utilizarse en cultivos de banano para discutir los resultados de los ensayos e inferir su potencial uso en estudios futuros. Los resultados de cada ensayo están presentes en el (Capítulo IV) y se cierra con la conclusiones y recomendaciones.

## CAPÍTULO II

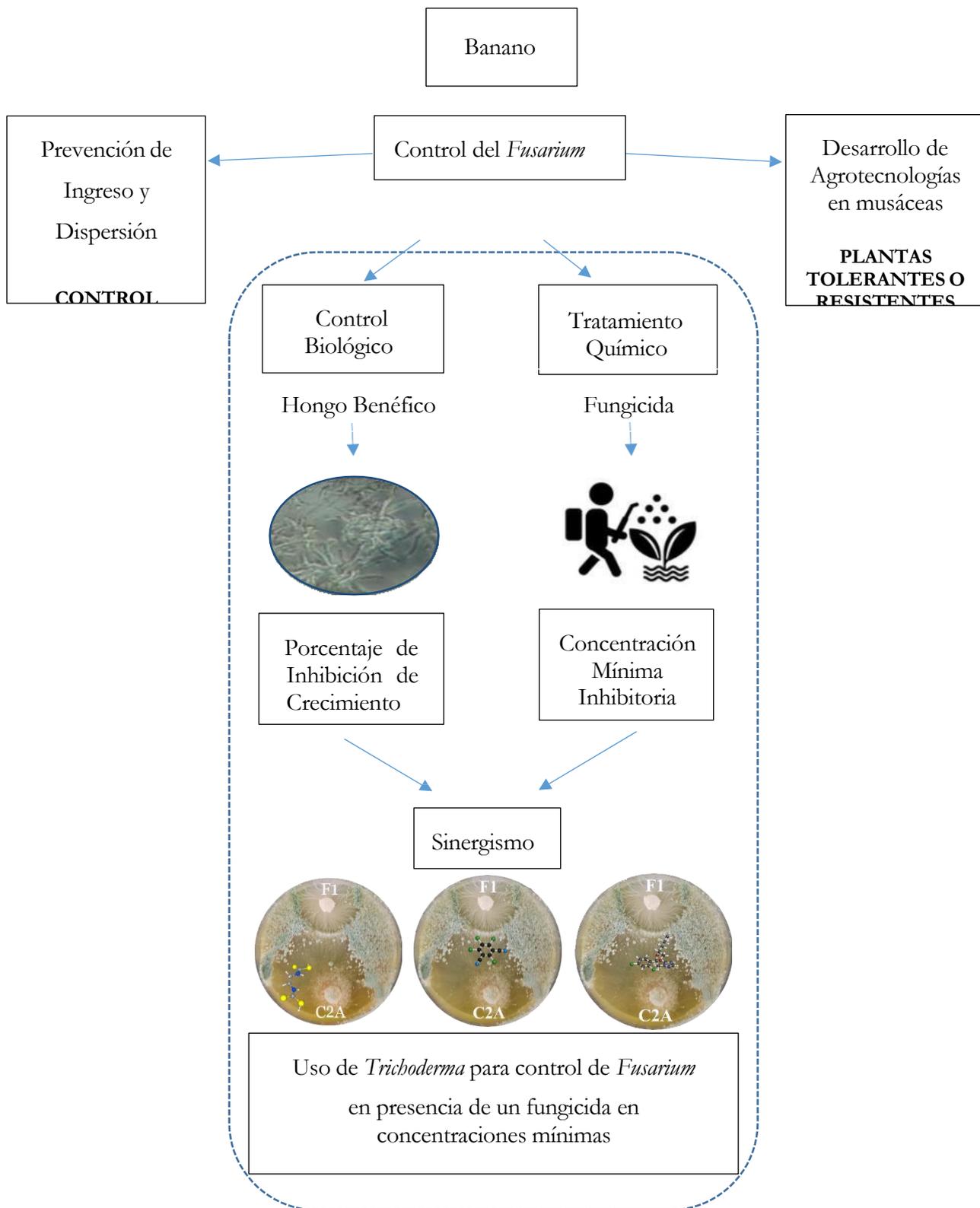
# REVISIÓN LITERARIA

## 2. Control del *Fusarium*

El control de *Fusarium* comprende cuatro aspectos, el control biológico, el control químico, la desinfección de todo el cultivo infectado y el uso de variedades resistentes a la infección (Figura 2.1). Los dos primeros están cubiertos por esta investigación. Los que se excluyeron son los aspectos fitosanitarios de control cuando las plantaciones ya están infestadas y el de la ingeniería genética para generar plantas tolerantes o resistentes a la enfermedad con OGM o CRISPR. En Ecuador, se están planteando proyectos para esta última alternativa por lo que no es base investigativa de esta tesis.

Dentro de las medidas fitosanitarias reglamentadas, estas son severas debido a que el “Foc R4T puede movilizarse a través de suelo, agua y material vegetal de propagación, por lo que todo producto que permita la distribución de Foc R4T es considerado un artículo reglamentado que deberá cumplir medidas fitosanitarias para su ingreso al país. El plan de contingencia contempla la a) desinfección de maquinaria agrícola y caminera usada; b) control de equipaje de acompañante a toda persona que ingrese al país por los puntos de entrada terrestres, marítimos y aéreos estable; c) protocolo para el manejo de plantas, productos vegetales y artículos reglamentados decomisados, d) tratamiento de desinfección para calzado, e) control de medios de transporte que ingresen al país, f) tratamiento fitosanitario para artículos reglamentados, g) medidas fitosanitarias en lugares de producción” (Agrocalidad 2021; Muñoz Wilfrido, Morejón Darwin, and Guerrero Andrés 2021).

Sobre la identificación de la plaga, el procedimiento es realizado por centros de investigación nacionales bajo alianzas estratégicas con INIAP, CIBE y AGROCALIDAD, basándose en un proceso de validación de un resultado afirmativo cuando se realiza usando a) Extracción de ADN (Adaptado de Quick-Start Protocol DNeasy Plant Mini Kit – QIAGEN®, 2016), b) PCR tiempo real, y c) PCR convencional (Agrocalidad 2021). Además, se ha identificado que es necesario un componente de comunicación y propagación de la información para concienciar a nuestro país de la amenaza que ocasionaría el ingreso de Foc R4T; así mismo poder determinar a través de la generación de capacitaciones y la emisión de alertas la presencia de un posible brote para que se consideren las medidas necesarias para detener el ingreso de Foc R4T. (Llauger et al. 2022 2022) . Así esta tesis encaja en dar insumos para ese componente.



**Figura 2.1** Esquema de control de *Fusarium* aplicando como control biológico *Trichoderma* en concentraciones mínimas de fungicidas.

Fuente: Autor

## 2.1 Ataque de *Fusarium* al banano

*F. oxysporum* es un patógeno con cualidades cosmopolitas que ataca desafortunadamente a cultivos de banano (*Musa* spp.), alrededor del mundo causando lo que se llama el marchitamiento de *Fusarium* (Ploetz 2006). En países de Latinoamérica, incluyendo Ecuador, se asume que, si la enfermedad se disemina por todo el país, puede causar pérdidas de la producción de la fruta que reduciría significativamente las exportaciones y así una parte elemental de producto interno bruto.



**Figura 2.2** Hongo *Fusarium oxysporum*

**Fuente:** Autor

Se estima que en Ecuador 162 000 ha de plantaciones de banano producen 335 millones de cajas de banano para exportación que contribuyen a 2.8 millones de dólares del PIB (FAO 2018). La importancia en el desarrollo del país se incrementa debido a que mucha de las personas que trabajan en los cultivos de banano tienen como fuente única de ingresos las actividades agrícolas bajo modelos de contratos o trabajos ocasionales. Además, el banano es un alimento elemental en las dietas ecuatorianas tanto de niños, adultos como ancianos. Debido a esto, el control de la contaminación y ataque del *Fusarium* es actualmente una prioridad debido a la importancia económica, sociocultural y ambiental que eminentemente se debe hacer de la manera más sostenible. La acción patogénica de este hongo es altamente eficiente debido a que ataca al tallo mediante el acaparamiento de los conidios lo cual reduce el transporte de nutrientes y las micotoxinas producidas por el hongo patógeno afectan a las células de la planta (Joshi 2018; Revelo 1991).



**Figura 2.3** Síntomas externos e internos de la enfermedad de la Marchitez por *Fusarium* causado por *Fusarium* spp. (A) Síntomas externos con un extenso amarillamiento foliar, (B-C) síntomas internos mostrando el enrojecimiento de los haces vasculares en el pseudotallo.

**Fuente:** (García-Bastidas, 2020).

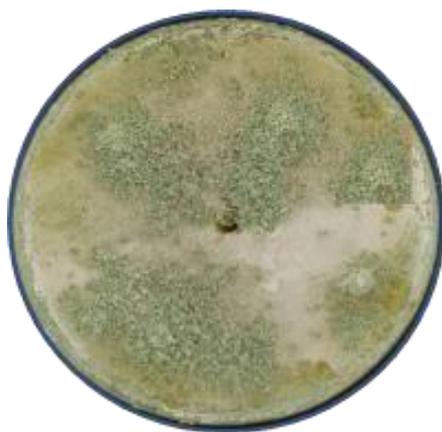
## 2.2 Uso de *Trichoderma* en el control biológico de *Fusarium* spp.

### 2.2.1 Evidencia sobre el uso de *Trichoderma* para el control de *Fusarium* en Ecuador y países exportadores de banano

El uso de hongos benéficos para el control biológico de hongos patógenos está en crecimiento exponencial dentro del mundo científico (Maymon et al. 2004), siendo las especies del género *Trichoderma* uno de los más estudiados, debido a su efecto antagónico y además promueve el crecimiento de las plantas (Rivera-Méndez, Brenes- Madriz, and Zúñiga-Vega 2018).

Su acción antagónica se atribuye a la producción de compuestos no volátiles que inhiben el crecimiento del hongo patógeno complementando el accionar de *Trichoderma* spp., con el uso de los nutrientes más efectivamente que el fitopatógeno, además, genera competencia de espacio durante el crecimiento de las hifas (Tirado-Gallego, Lopera- Álvarez, and Ríos-Osorio 2016a). Además, se sabe que el hongo actúa beneficiosamente en el crecimiento de las plantas debido a que produce enzimas como celulasas (Cano 2011).

En este sentido, la identificación de cepas de *Trichoderma* que estén en suelos ecuatorianos es muy valorado en vista de que se necesita su aporte para el desarrollo regional y de manera preventiva a ataques de fitopatógenos como *Fusarium*.



**Figura 2.4** Cepa de *Trichoderma* spp.

**Fuente:** Autor

Existen estudios publicados sobre Ecuador que identifican el uso de *Trichoderma* como potencial control biológico para *Fusarium*. La Tabla 2.1 lista alguno de ellos y presenta un resumen de sus resultados.

**Tabla 2.1** Estudios relacionados al uso de *Trichoderma* spp., como control biológico de *Fusarium* en Ecuador.

Autor/es	Publicación	Información relevante
(Román and Manuel 2018)	“Uso de hongos del género <i>Trichoderma</i> spp. como controlador de nematodos en el cultivo de banano”.	La especie <i>Trichoderma</i> spp. mantiene un control demasiado alto (78%) en ensayos de campo frente al <i>Fusarium oxysporum</i> .
(Pastrano 2018)	“Estudio preliminar y evaluativo sobre el efecto del <i>Trichoderma</i> spp. ante casos de estudio <i>in vitro</i> en el sector bananero con el <i>Fusarium oxysporum</i> ”.	En estudios con el manejo de 20 muestras aleatorias, el <i>Trichoderma</i> spp. bajo condiciones óptimas muestra una alta eficiencia de 54% frente al <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> raza 1, pero decae dentro de procesos de largo plazo en 19% al existir la intervención de fungicidas en las pruebas <i>in vitro</i> .

(Arbito 2017)	“Evaluación in vitro de la capacidad antagonista de <i>Trichoderma</i> spp. frente a <i>Fusarium oxysporum</i> ”.	Las 4 cepas de <i>Trichoderma</i> spp. (M2, M3, M4, M5) presentaron <i>in vitro</i> una capacidad antagónica mayor al 40% frente a <i>Fusarium oxysporum</i> .
(Gonzabay et al. 2016)	“Determinación de la presencia de <i>Fusarium oxysporum</i> en banano mediante PCR”.	Realizar estudios en cadena de la polimerasa, esa la mejor forma para determinar la presencia de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> raza 1 en banano ecuatoriano <i>musa</i> spp, con una sensibilidad y eficiencia de prueba de 96%. Y sobre esta aplicar potenciales estudios in vitro del accionar del <i>Trichoderma</i> spp.
(Vallejo, Troya, and Pallo 2017)	“Evaluación de tres medios de cultivo para producción de bioinsumos a base de <i>Trichoderma</i> spp.”.	En la aplicación directa de <i>Trichoderma</i> spp. hacia varios productos agrícolas de la región costa y sierra se determinó un promedio de 231 esporas por ml/día; con una tasa promedio de crecimiento de 15,8 mm/diario; con procesos de inoculación de 10 a 20 días aproximadamente, muy replicable para otros productos agrícolas.

Los resultados de estos estudios presentan la capacidad de usar *Trichoderma* spp., para inhibir el crecimiento de *F. oxysporum* midiendo el porcentaje de inhibición del diámetro de crecimiento. Lamentablemente los artículos sobre el uso *Trichoderma* spp., con relevancia a nivel nacional están limitados por una lista de barreras, que se encuentran resumidas en la Tabla 2.2.

**Tabla 2.2** Limitaciones de investigaciones hechas sobre *Trichoderma* spp. en Ecuador.

País	Limitaciones
	De los estudios sobre los efectos fungicidas del <i>Trichoderma</i> spp., están direccionados a productos como: brócoli, arroz, mora, aguacate, maracuyá, babaco, cacao y del clavel.
	De los estudios sobre los efectos fungicidas del <i>Trichoderma</i> spp. están direccionados al cultivo y control de la mora andina o de Castilla ( <i>Rubus glaucus</i> ).

Ecuador	De los estudios sobre los efectos fungicidas del <i>Trichoderma</i> spp., ante <i>F. oxysporum</i> , en la producción de banano, son limitados a casos <i>in vitro</i> y su aporte es casi nulo en la implementación práctica o de campo.
	De los estudios sobre los efectos fungicidas de <i>Trichoderma</i> spp., ante <i>F. oxysporum</i> , en la producción de banano, son realizados por las instituciones de educación superior del Ecuador sin aporte financiero de la propiedad privada, que al final son quienes hacen mayor uso de dichos estudios.

Al comparar las limitaciones con lo que se está realizando en otros países de latino américa se pueden destacar los siguientes avances.

**Tabla 2.3.** Limitaciones de investigaciones hechas sobre *Trichoderma* spp., en Latinoamérica.

País	Limitaciones
Costa Rica	De los estudios sobre los efectos fungicidas de <i>Trichoderma</i> spp. ante <i>F. oxysporum</i> , fueron realizados antes del 2016 y hoy pocos son los aportes investigativos de dicho tema.
	De los estudios sobre los efectos fungicidas de <i>Trichoderma</i> spp., ante <i>F. oxysporum</i> , de carácter moderno y práctico, son realizados en el país; donde, la mayoría proviene de aplicaciones de estudios internacionales por medio de adquisición de licencias directas para el sector bananero.
Colombia	De los estudios sobre los efectos fungicidas de <i>Trichoderma</i> spp., están direccionados al cultivo y control de café ( <i>Coffea canephora</i> ).
	De los estudios sobre los efectos fungicidas de <i>Trichoderma</i> spp., ante el <i>F. oxysporum</i> , son prácticos y de campo, antes que revisiones teóricas o estudios <i>in vitro</i> .
	De los estudios sobre los efectos fungicidas de <i>Trichoderma</i> spp., ante el <i>F. oxysporum</i> , hacen referencia sobre la cuarentena productiva como una de las mejores alternativas para el control de la marchitez por <i>Fusarium</i> .
Guatemala	De los estudios sobre los efectos fungicidas de <i>Trichoderma</i> spp., ante el <i>F. oxysporum</i> , provienen de documentos preliminares y licenciados de diagnósticos internacionales del Queensland University of Technology (Brisbane – Australia).

Nuestros resultados nos permiten también presentar una síntesis sobre los porcentajes de control obtenidos y el cultivo utilizado en el estudio que fue utilizado en el ensayo en los diferentes países que reporto la revisión literaria.

**Tabla 2.4** Porcentajes de crecimiento de *Fusarium* controlado por *Trichoderma* spp., en estudios según la revisión literaria

País	Cultivo estudiado	% de crecimiento controlado de <i>Fusarium</i> (Referencia)
Ecuador	Arroz, y otros cultivos, banano	40 % (Arbito 2017)
		54 % (Pastrano 2018)
		78 % (Román and Manuel 2018)
		96 % (Gonzabay et al. 2016)
Filipinas	Banana	79 % (Bubici et al. 2019)
		72 % (Aniel and Jenies 2018)
Costa Rica	Banano	40 % (Robins 2019)
Colombia	Banano y suelo	37 % (Zapata Henao 2019)
		40-50 % (María Samaniego-Fernández et al. 2018)
Guatemala	Banano	36 % (Caballero 2018)
		34 % (Buendía 2017)

### 2.2.2 Metabolitos secundarios producidos por *Trichoderma* spp., en presencia de *Fusarium* spp.

El género *Trichoderma* es bien conocido como uno de los agentes de control biológico más útiles contra varios fitopatógenos utilizados en diferentes especies vegetales. La gestión de hongos fitopatógenos mediante el uso del género *Trichoderma* a través de una variedad de

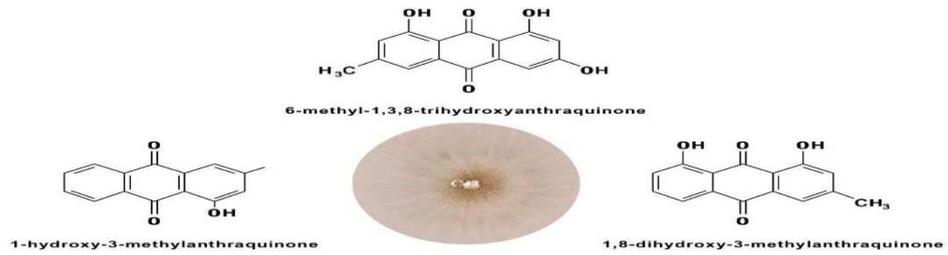
mecanismos antifúngicos asociados se considera una estrategia sostenible y ecológica que reduce la presencia nociva de patógenos en el suelo, las raíces y las partes aéreas de las plantas. Sin embargo, el uso de agentes de biocontrol en combinación con plaguicidas químicos ha demostrado un mayor potencial no sólo para reducir el crecimiento de patógenos, sino también para beneficiar el desarrollo de las plantas. Una mejor caracterización de los metabolitos activos secretados por *Trichoderma* y sus mecanismos de acción es necesaria para mejorar su uso como agente de biocontrol.

*Trichoderma* spp., comprende más de 200 especies válidamente descritas que se distribuyen en suelos de todo el mundo y en diversos hábitats con una capacidad de producción de metabolitos a la cual también se la considera un recurso valioso para productos naturales estructuralmente novedosos con diversas bioactividades, incluido el control biológico de fitopatógenos (Röhrich et al, 2014). En el interés por obtener métodos más eficaces de control de patógenos, nuestro grupo y otros autores han utilizado microorganismos de la rizosfera promotores del crecimiento vegetal en consorcio o en combinación con pesticidas químicos (Gonzalez et al. 2020; Peláez-Álvarez et al. 2016). Los bioensayos han revelado un gran potencial para mejorar los métodos actuales para administrar tratamientos antifúngicos a los cultivares de plantas. Sin embargo, se necesita una evidencia resumida sobre los metabolitos activos y el mecanismo de acción tanto de los agentes de biocontrol como de los pesticidas químicos para hacer un mejor uso de esta posibilidad.

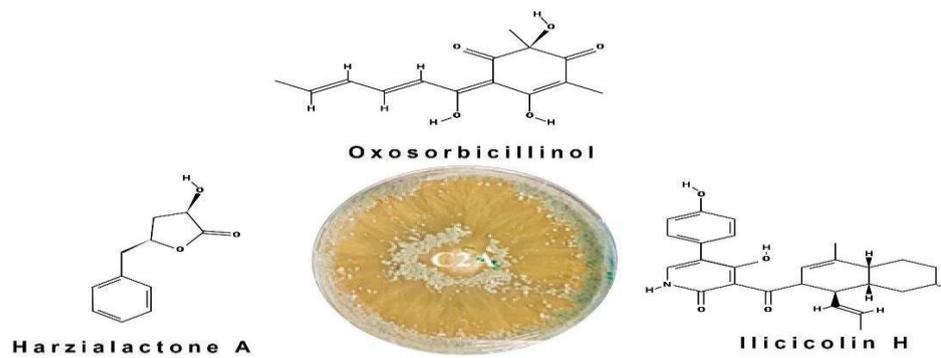
Los Metabolitos Secundarios (MSs) no son esenciales para el crecimiento normal, pero se sintetizan para hacer frente a condiciones ambientales específicas. Los MSs pueden ser compuestos orgánicos volátiles o no volátiles. Los (MSs) volátiles se difunden a distancia a través de sistemas en el suelo que afectan la fisiología de los organismos competidores (Napitupulullyas, Kanti, and Im 2019). Los (MSs) no volátiles ejercen su actividad a través de interacciones directas entre especies de *Trichoderma* y sus antagonistas (Stracquadanio et al. 2020). La evidencia actual sobre los (MSs) secretados por *Trichoderma* spp., demuestra que existen casi 590 compuestos únicos e incluyen una amplia gama de clases estructurales como pironas, butenólidos, esteroides, péptido bio- activos y terpenoides (Röhrich et al. 2014). El 54% de todos los (MSs) reportados, tienen al menos un efecto biológico asociado.

En este trabajo revisamos el uso de *Trichoderma* spp., como agentes de biocontrol, y los metabolitos secundarios que se han caracterizado como moléculas activas. Entre los cuales destacan las siguientes especies *Trichoderma* spp., dentro de este tema investigativo.

**A. *Trichoderma harzianum***



**B. *Trichoderma reesei***



**C. *Trichoderma spirale***



**Figura 2.5** Metabolitos secundarios asociadas con actividad antifúngica que destacan en las cepas (A) *T. harzianum*, (B) *T. reesei*, y (C) *T. spirale* en el biocontrol contra *Fusarium oxysporum*. (Shenouda, Ambilika, and Cox 2021) (Li, Li, and Zhang 2019; Z. Yang et al., n.d.)

## 2.3 Fungicidas usados para control de *Fusarium* en Banano

Como se mencionó anteriormente el Foc R4T es un hongo que habita en el suelo, y es poco controlado con la utilización de fungicidas y no puede ser erradicado utilizando fumigantes; la capacidad del hongo para sobrevivir décadas en el suelo junto con sus letales impactos y amplio rango de hospederos es la razón principal por lo que es considerado como una de las mayores amenazas para la producción del banano (Muñoz Wilfrido, Morejón Darwin, and Guerrero Andrés 2021). Pero existen 3 fungicidas que se utilizan en el control de sigatoka y que han sido recomendados para el control de la marchitez por *Fusarium* (J. Xu et al. 2019) (Yossen et al. 2014) (Alburqueque Andrade 2018) y que se han ensayado en fincas de banano para controlar hongos. Así la Tabla 2.10 lista los tres fungicidas comerciales con su espectro. El control de la marchitez por *Fusarium* en banano de acuerdo con las especificaciones técnicas declaradas los diferentes fungicidas se llevan a cabo con aplicaciones de mancozeb en 1,5 a 3 kg/ha, clorotalonil 1 a 2 L/ha y propiconazol 0,4 L/ha.

**Tabla 2.5** Fungicidas comerciales usados en el control de hongos que atacan al

banano.

Compuesto activo	Características del fungicida	Efectos negativos en la salud humana	Presentación Ia	Uso en campo
Mancozeb	Fungicida de contacto y del gran espectro	El compuesto es irritante de metabolismos que perjudican la reproducción a nivel celular y deben considerarse tóxico para la reproducción humana (Runkle et al. 2017).	800 g/L	Polvo para diluir, 1 – 3 kg / ha
Clorotalonil	Fungicida de contacto y del gran espectro	Muchos efectos carcinogénicos (Kleinstreuer et al. 2012)	720 g/L	Suspensión concentrada, 1 – 2 L/ha
Propiconazol	Fungicida sistémico y de alto espectro	Disruptor del sistema endocrino del feto (Asghar, Malik, and Javed 2016)	25	Concentrado emulsionable, 0.4 L /ha

Revisando los tres fungicidas seleccionados (i.e Mancozeb, Propiconazol y Clorotalonil), mancozeb es un fungicida de contacto del grupo de ditiocarbamatos con un mecanismo de acción que tiene efecto sobre la producción de energía al reaccionar los grupos SH- de proteínas principalmente enzimas ocurriendo una acción multi-sitio, y que en estudios *in vitro* ha demostrado ser compatible con *Trichoderma* en comparación con otros fungicidas sistémicos que inhiben el crecimiento de *Trichoderma* y su actividad como control biológico (Dinkwar et al 2023). En el caso de Propiconazol inhibe el desarrollo de haustorios secundarios de los patógenos, controla el patógeno sin afectar el cultivo interfiriendo con la síntesis de los esteroides de sus membranas celulares y por último Clorotalonil el cual presenta disminución de tioles del glutatión procedente de las células fúngicas germinativas, llevando a la interrupción de la glicólisis y producción de energía que termina en la muerte del hongo.

El ingrediente activo mancozeb poseen múltiples sitios de acción en las células fúngicas y presenta un bajo riesgo de resistencia. Sin embargo, diferentes estudios han demostrado ser insensibles al fungicida mancozeb (Malandrakis et al. 2018), se destaca al principio activo propiconazol por presentar largos periodos de protección y un aumento de resistencia a las cepas (Baldwin and Rathmell 1988) y por último Clorotalonil que se caracteriza por tener un amplio espectro de control.

El manejo de fungicidas implica riesgos importantes y requiere, en cualquier país, políticas claras de reducción en su uso para eliminar o disminuir la exposición ambiental y de la población en general a estas sustancias. Ciclos repetitivos de aplicación, resistencia, nuevos modos de acción y pérdida de eficacia son problemáticas de la utilización de los fungicidas. A causa de esto es importante conocer que la EC50 (o ED50) la cual es una medida útil para comparar la potencia de diferentes compuestos y determinar la concentración o dosis necesaria para producir el 50% de la respuesta máxima en una determinada situación (Waller and Sampson 2018).

## CAPÍTULO III

## METODOLOGÍA

### **3.1. Selección de cepas para ensayos *in vitro***

Para el estudio se utilizó 10 especies del género *Trichoderma* spp., provenientes de la colección de cepas del laboratorio de fitopatología (CIBE) las cuales fueron aisladas del suelo de una plantación de cacao. El aislamiento de estas cepas se reactivó en Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés). Los cultivos fueron realizados durante siete días a una temperatura de 25-28°C, o hasta que el micelio esporule. Se trabajó con 3 cepas de *F. oxysporum* que se encontraban conservadas a -80°C en el Banco de Germoplasma del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE). Estas cepas fueron crecidas en cajas Petri con PDA durante 7 días a 28°C para ser posteriormente utilizadas en los ensayos.

### **3.2. Selección de especies para uso *in vitro***

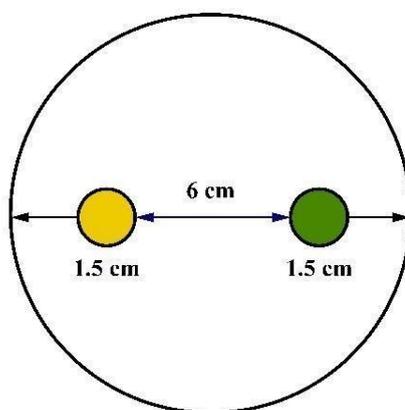
Las 10 cepas reactivadas de *Trichoderma* spp., listadas en la Tabla 4.1, fueron utilizadas en este estudio previa autorización del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE-ESPOL). Los aislados crecieron en medio PDA durante 7 días a 28°C.

### **3.3. Características morfológicas de los hongos en estudio**

Se caracterizó los microorganismos estudiados a través de sus diferentes características macroscópicas y microscópicas tales como la presencia de las diferentes estructuras, conidios coloración del micelio y presencia de las hifas, para el estudio se facilitó la especie del género *Trichoderma* spp., provenientes de la colección de cepas del laboratorio de fitopatología (CIBE) *T. reesei* (C2A), luego el aislamiento de esta cepa se reactivó en Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) se cultivó durante siete días a una temperatura de 28 ± 1°C, o hasta que el micelio esporule. La cepa de *F. oxysporum* (F1) se encontraba conservada a -80°C en la Colección de Microorganismos del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE). Ambas cepas fueron crecidas en cajas Petri con PDA durante 7 días a 28°C para ser posteriormente utilizadas.

### 3.4. Ensayos de Placa Dual (EPD) para capacidad antagónica

La capacidad micoparásitica de *T. reesei* (C2A) para controlar el crecimiento de *F. oxysporum* (F1) fue evaluada por el ensayo de placa de cultivo dual (Anith and Manomohandas 2001; Ashwini and Srividya 2014). Para determinar el grado de micoparasitismo como un probable mecanismo de acción de *T. reesei* (C2A), se realizaron observaciones macroscópicas de los cultivos duales, tomándose como índice de micoparasitismo, la invasión del antagonista sobre la superficie del micelio de *F. oxysporum* (F1). Las pruebas consistieron en la inoculación de discos de 8 mm que contenían agar y micelio de *T. reesei* (C2A) en un lado de una placa de Petri que contenía PDA, en el otro lado de la placa, se inoculó un disco micelial de *Fusarium oxysporum* (F1) manteniendo una distancia de 6 cm entre cada disco. La Figura 3.1 ilustra el diseño de la placa dual.



**Figura 3.1.** Diseño de placa dual ilustrado. En Amarillo es el hongo benéfico

*Trichoderma* (C2A), y en verde está *Fusarium* (F1).

Las placas se incubaron durante 7 días a 28 ° C. El micoparasitismo de *T. reesei* (C2A) se midió diariamente utilizando el índice de capacidad antagonista descrito en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1.** Escala para evaluación de la capacidad antagónica adaptada de la literatura

(Mohammed Ezziyyani et al. 2004).

<b>Grado de Antagonismo</b>	<b>Capacidad antagónica</b>
0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia de <i>F. oxysporum</i>
1	Invasión de $\frac{1}{4}$ de la superficie de la colonia de <i>F. oxysporum</i> .
2	Invasión de $\frac{1}{2}$ de la superficie de la colonia de <i>F. oxysporum</i> .
3	Total invasión de la superficie de la colonia de <i>F. oxysporum</i> .
4	Total invasión de la superficie de la colonia de <i>F. oxysporum</i> esporulación sobre ella.

Para esto, se tomó en consideración la escala adaptada de Ezziyyani *et al.* (2004) utilizando índices que van desde 0-4 donde el grado de 3 es satisfactorio para una capacidad antagónica en la cepa de *T. reesei* el cual se lo realizo durante un periodo de 7 días experimentales (Calvo-Araya et al. 2012).

### 3.5 Selección de concentraciones mínimas inhibitorias

La capacidad inhibitoria de crecimiento de 3 fungicidas comerciales cuyos componentes activos fueron mancozeb, propiconazol y clorotalonil fueron evaluados frente a la cepa benéfica *T. reesei* (C2A) y a la cepa patógena *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 (FOC 1), para ello, se prepararon placas Petri conteniendo PDA como medio de cultivo adicionando las diferentes concentraciones de los 3 fungicidas comerciales 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 mg/L, una vez que el agar solidificó se colocaron en el centro de la caja de Petri de (9 cm de diámetro) discos de 8 mm de diámetro con micelio de cada hongo, se midió el diámetro de las diferentes colonias en dos direcciones (vertical y horizontal), y el crecimiento micelial se obtuvo como el promedio de los valores entre ambas direcciones, las placas fueron incubadas a 28°C durante 7 días, todos los ensayos experimentales fueron replicados independientemente tres veces (Pérez Moreno L et al. 2015).

$$TC = \frac{C2 - C1}{T2 - T1}$$

Donde: TC = tasa de crecimiento (mm<sup>2</sup> h<sup>-1</sup>); C1= crecimiento inicial (mm<sup>2</sup>); C2= crecimiento final (mm<sup>2</sup>); T1= tiempo inicial (h); T2= tiempo final (h)

### 3.6. Determinación del Porcentaje de Inhibición al Diámetro del Crecimiento (PIDC).

El crecimiento de los micelios se reportó como el promedio de las medidas verticales y horizontales en centímetros. Utilizando un análisis de varianza y el método de Tukey, determinamos que durante el ensayo de 7 días hubo diferencias significativas entre el crecimiento micelial del agente de biocontrol y la cepa fitopatógena.(Nordin et al. 2013). El uso del indicador Porcentaje de Inhibición del Diámetro de Crecimiento (PIDC) nos proporciona una indicación con respecto a la capacidad de control biológico de la cepa de *T. reesei* (C2A) en comparación con el control positivo. El PIDC se estimó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{PIDC (\%)} = \frac{\text{Diámetro del control positivo} - \text{Diámetro de la muestra}}{\text{Diámetro del control positivo}} \times 100$$

Diámetro del control positivo

### 3.7. Ensayos de sinergismo *T. reesei* (C2A) en combinación con los fungicidas Mancozeb, Propiconazol y Clorotalonil vs *F. oxysporum* (F1).

Ensayos de confrontación se llevaron a cabo con la finalidad de cuantificar la capacidad de control del sinergismo de *T. reesei* (C2A) frente a tres diferentes tipos de fungicidas comerciales como son: Mancozeb, Propiconazol y Clorotalonil contra *F. oxysporum* f. sp. *ubense* (F1), para los diferentes ensayos *in vitro* primeramente se sembraron durante siete días las cepas patógenas y las cepas benéficas de manera simultánea, transcurrido este tiempo se procedió a preparar placas de Petri conteniendo PDA como medio de cultivo junto a la dosis seleccionada 0.1, 0.001 mg/ L de fungicidas, una vez que el agar solidifico se colocaron en el extremo discos de 8 mm de diámetro con micelio de *F. oxysporum* (F1) a 1.5 cm del borde de las cajas Petri y discos de 8 mm de diámetro de las cepas de *T. reesei* (C2A) fueron colocados en el extremo opuesto de la caja Petri de modo que los enfrentamientos se mantengan 6 cm equidistantes, las cajas de Petri se incubaron a 28°C durante 7 días (Peláez - Álvarez et al. 2016). Todos los ensayos experimentales fueron replicados independientemente por tres ocasiones. (de los Santos- Villalobos et al. 2013) El porcentaje de inhibición de *F. oxysporum* f. sp. *ubense* (F1) fue calculado utilizando la siguiente ecuación:

$$\% I = \frac{A1 - A2}{A1} * 100$$

De donde, %I= porcentaje de inhibición (%), A1= área de la caja de Petri (en mm<sup>2</sup>) cubierta por *F. oxysporum* inoculado sin el agente de control, A2 = área de la caja de Petri (en mm<sup>2</sup>) cubierta por *F. oxysporum* co-inoculado con *T. reesei* (C2A).

### **3.8. Determinación del EC50 (o ED50) de los fungicidas Mancozeb, Clorotalonil y propiconazol**

En este análisis, se compararon la EC50 de tres tipos de fungicidas (Mancozeb, Clorotalonil y Propiconazol) en diferentes días en relación con el crecimiento de *F. oxysporum*.

A fin de establecer una ecuación de regresión que permita derivar los valores de EC50 para cada uno de los fungicidas aplicados en este estudio se utilizó la cepa patógena *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 (FOC 1), para ello, se prepararon placas Petri conteniendo PDA como medio de cultivo adicionando las diferentes concentraciones de los 3 fungicidas comerciales (Mancozeb, Clorotalonil y Propiconazol) 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 mg/L, una vez que el agar solidificó se colocaron en el centro de la caja de Petri de (9 cm de diámetro) discos de 8 mm de diámetro con micelio del hongo patógeno. (Pérez Moreno L et al. 2015).

### 3.9 Estado del arte de la actividad antifúngica de metabolitos y enzimas de *Trichoderma* spp., contra *F. oxysporum*.

Se utilizó el protocolo PRISMA para obtener la información necesaria para listar los metabolitos secundarios (MSs) y enzimas encontrados en la literatura junto con las actividades biológicas asociadas. Se realizó una búsqueda manual adicional para recuperar la actividad antifúngica de los tres fungicidas seleccionados. Para la búsqueda sistemática se utilizaron tres motores de búsqueda: Pubmed, Science Direct y Google Scholar. La búsqueda general inicial utilizó la sintaxis "*Trichoderma* AND *Fusarium* AND actividad antifúngica" para todos los años e idiomas. A continuación, se filtró la búsqueda utilizando las opciones de búsqueda avanzada. Solo se seleccionaron artículos publicados en inglés o español desde 2016 hasta 2021. Además, se mejoró la sintaxis utilizando "*Trichoderma*" OR "*reesei*" OR "*harzianum*" OR "*spirale*", ya que estas son las cepas seleccionadas en nuestro estudio (Gonzalez et al. 2020). Además, se mejoró la sintaxis utilizando una secuencia de palabras más específica: "*Fusarium oxysporum*" AND metabolitos AND *Trichoderma* AND antifúngico". En la búsqueda manual de los fungicidas se utilizó la sintaxis "*F. oxysporum*" AND *Trichoderma* OR (Mancozeb OR Chlorothalonil OR Propiconazole).

La versión PDF de cada estudio se recuperó y almacenó utilizando End Note Reference Manager (<https://endnote.com/>). Los estudios recuperados por duplicado en los distintos motores de búsqueda se eliminaron automáticamente mediante las opciones de End Note. A continuación, se seleccionaron los artículos recuperados mediante la inspección del contenido del título y el resumen.

La extracción de datos se realizó mediante la lectura del texto completo. Se extrajeron los siguientes datos de cada uno de los artículos seleccionados: MSs, especie o aislado de *Trichoderma* y actividad biológica descrita para el compuesto específico. Se utilizó una carpeta individual para cada fungicida.

## CAPÍTULO IV

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

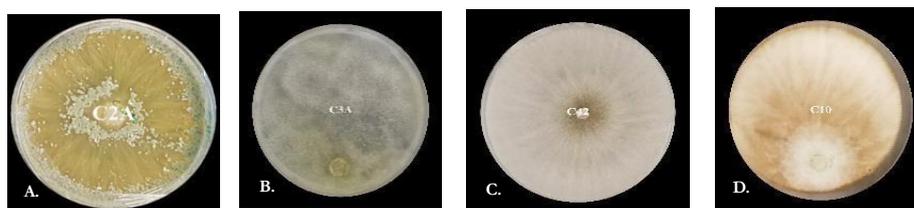
### 4.1. Selección de cepas y especies para ensayos *in vitro*

Los ensayos *in vitro* utilizaron solo 4 de las 10 cepas de hongos beneficiosos y se utilizaron 3 cepas del patógeno *F. oxysporum* que se identificaron macroscópicamente por la presencia de conidios, hifas y coloración de micelio, para identificar aún más la diferencia de las cepas por características de morfológicas, como conidióforos hialinas y ramificación.

**Tabla 4.1** Cepas de *Trichoderma* spp.

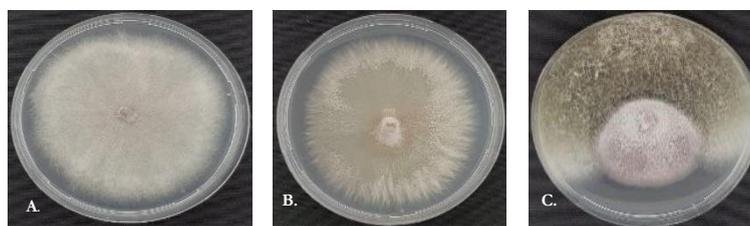
Aislados	<i>Trichoderma</i> spp.	Criterio de Inclusión	Seleccionadas
C1A	<i>T. barzianum</i>	Crecimiento ideal Poca contaminación	+
C2A	<i>T. reesei</i>	Crecimiento ideal Poca contaminación	+
C3A	<i>Trichoderma</i> spp.	Crecimiento ideal Poca contaminación	+
Aislados	<i>Trichoderma</i> spp.	Criterio de Inclusión	Excluidas
C3B	<i>T. spirale</i>		-
C4A	<i>T. barzianum</i>		-
C4B	<i>T. ghanense</i>		-
C5	<i>T. spirale</i>	Crecimiento ideal Poca contaminación	+
C8	<i>T. spirale</i>		-
C9	<i>T. spirale</i>		-
C10	<i>T. spirale</i>		-

Las 4 cepas reactivadas seleccionadas de *Trichoderma* fueron: *T. harzianum*, *T. reesei*, *Trichoderma* spp., y *T. spirale* están ilustradas en Figura 4.1. Estas fueron seleccionadas ya que sus aislados crecieron idealmente en medio PDA durante 7 días a 28°C.



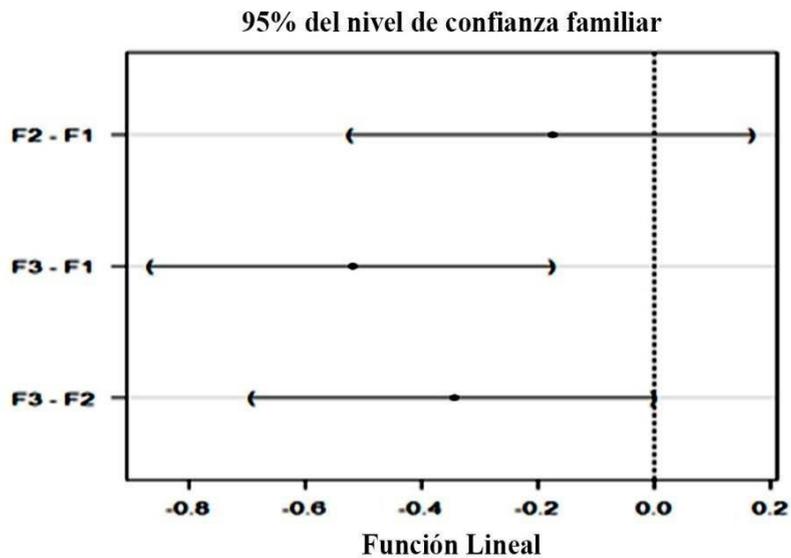
**Figura 4.1.** Aislados de *Trichoderma* spp., (A) *T. reesei* (C2A), (B) *T. spp* (C3A), (C) *T. harzianum* (C4A) y (D) *T. spirale* (C10).

En la Figura 4.2 se puede observar el crecimiento de las 3 cepas de *Fusarium oxysporum* que se usaron en los ensayos. A simple vista se puede identificar que *Fusarium oxysporum* F1 tiene un crecimiento ideal y que su diámetro de crecimiento puede ser medido sin complicaciones, y es por esto es por lo que fueron seleccionadas.



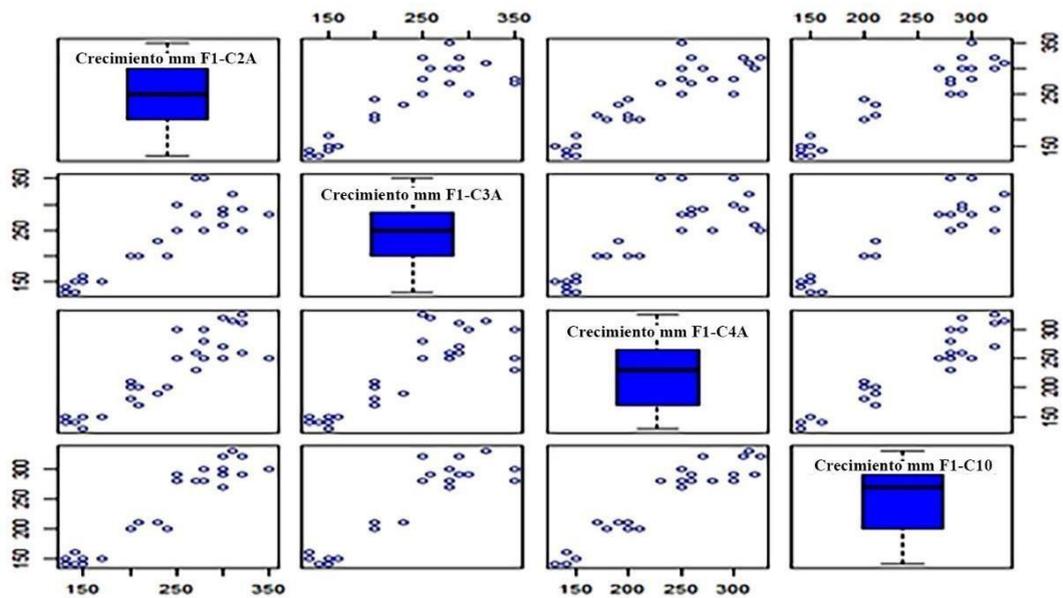
**Figura 4.2** Aislados de *Fusarium oxysporum* cepas (A) F1, (B) F2 y (C) F3.

Además, en la Figura 4.3, el diagrama de medias evidencia que los diámetros de crecimiento no son significativamente diferentes el uno del otro.



**Figura 4.3.** Diagrama de medias en una función lineal y de las comparaciones en pareja con un 95% grado de confianza (Tukey ).

Basados en la selección de *F. oxysporum* (F1) se realizaron pruebas de crecimiento para observar el comportamiento de *F. oxysporum* (F1) confrontado con las cuatro cepas seleccionadas *T. harzianum* (C4A), *T. reesei* (C2A), *Trichoderma* spp. (C3A) y *T. spirale* (C10). En la Figura 4.4, se puede observar que el crecimiento de *F. oxysporum* (F1) y *T. reesei* (C2A) tiene una mejor distribución en comparación de los otros diagramas de cajas. Además, en la Tabla 4.2 se reporta el porcentaje de inhibición del crecimiento de *F. oxysporum* (F1) cuando se confrontó a las 4 cepas de *Trichoderma* por tres días.

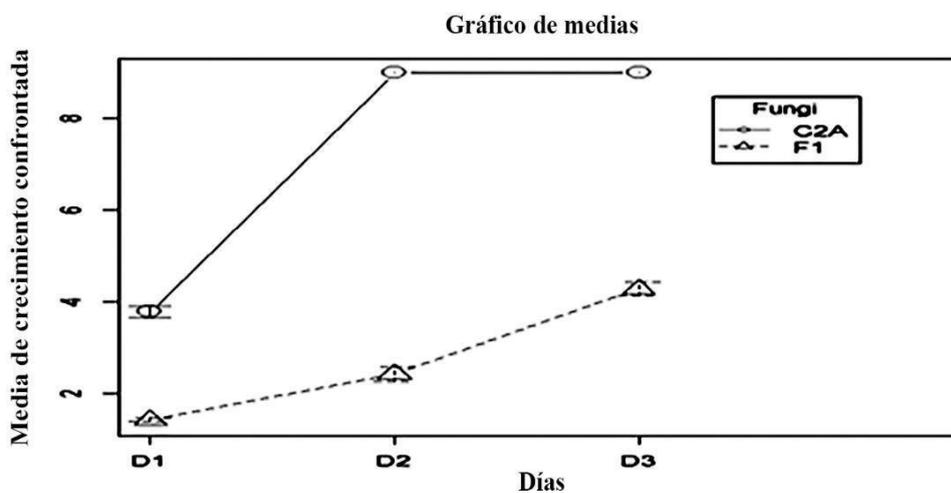


**Figura 4.4.** Diámetro de crecimiento de *F. oxysporum* (F1) confrontado a 4 cepas de *Trichoderma* spp.: *T. harzianum*, *T. reesei*, *Trichoderma* spp., y *T. spirale*.

**Tabla 4.2.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de *F. oxysporum* (F1) confrontado a 4 cepas de *Trichoderma* spp.

Tiempo en Días	F1 C2A	F1 C3A	F1 C4A	F1 C10
Día 1	-6.1	-6.3	-7.2	-4.4
Día 2	-7.6	-6.4	-7.6	-4.6
Día 3	-8.4	-6.5	-6.5	-4.9

Para confirmar la selección de los dos hongos se observó, en un gráfico de medias (Figura 4.5), que el diámetro de crecimiento del hongo benéfico es ideal para causar parasitismo al hongo patógeno el cual creció más lentamente, o se puede decir que redujo su crecimiento.



**Figura 4.5.** Diagrama de medias en relación con el tiempo (Día 1, Día 2 y Día 3) comparando el hongo benéfico C2A y el patógeno F1.

## 4.2. Caracterización macroscópica y microscópica de los hongos *T. reesei* C2A y *F. oxysporum* F1.

Al realizar la caracterización tanto del hongo patógeno y del benéfico, los resultados mostraron que ambos hongos tenían características macroscópicas y microscópicas bien definidas. El hongo *T. reesei* exhibió un rápido crecimiento en PDA y después de aproximadamente 60 a 72 horas de ser incubado a 28 ° C, el micelio cubrió todo el diámetro de la placa de Petri de 9 cm (Figura 4.6).

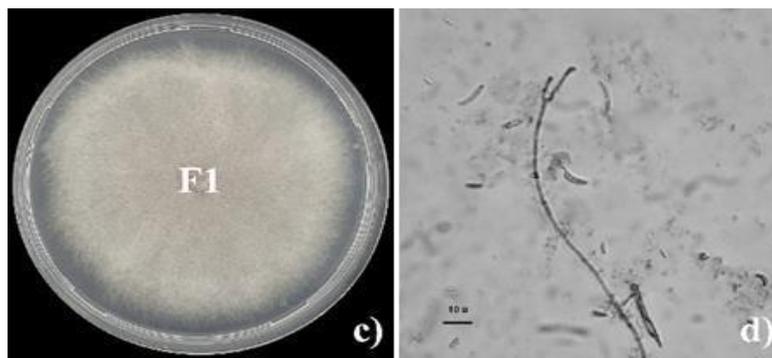


**Figura 4.6** *T. reesei* (C2A) en observación, a) macroscópica y b) microscópica 10 X.

Las características típicas de crecimiento de *T. reesei* (C2A) incluyeron hifas

algodonosas blancas sin micelio aéreo, conidios amarillentos-verdosos y cambio de la coloración media debido a la producción de un pigmento amarillento. Se observaron características de micro morfología como conidióforos hialinos, rama primaria larga y rama secundaria corta. *T. reesei* (C2A) exhibió micelio blanquecino que creció aproximadamente a un ritmo de 3,41 cm al día. Después de 2 días de incubación, el color del micelio cambió de blanquecino a amarillento y cubrió todo el diámetro de la placa de Petri a partir del día 3, el color del micelio se volvió verdoso-grisáceo con una apariencia lisa que exhibe conidios elipsoidales verdosos.

Por otro lado, las características macroscópicas de *F. oxysporum* (F1) comenzaron con un diámetro de crecimiento inicial de 1,50 cm en el día 1, con un aumento constante hasta 8,69 cm el día 7, no produjo pigmentos difusibles, sus micelios vegetativos y aéreos fueron blanquecinos y rosados, respectivamente (Figura 4.7). Se analizaron macroconidios y microconidios para identificar las especies de la cepa patógena. Pasando el día 1, y 2, *F. oxysporum* (F1) mostró un crecimiento micelial constante (1.50 días 1, 2.92 días 2, 4.24 días 3, 5.37 días 4, 6.90 días 5, 7.83 días 6 y 8.69 días 7).



**Figura 4.7** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* F1 observada con objetivo 10 X.

Se realizó un sumario del crecimiento de ambos hongos se encuentra en la Tabla 4.3, donde se reporta el crecimiento utilizando mediciones de diámetro radial.

**Tabla 4.3.** Diámetro de crecimiento de *T. reesei* (C2A) and *F. oxysporum* (F1).

<i>T. reesei</i> (C2A)			<i>F. oxysporum</i> (F1)	
Día	Media (SD)	Características del micelio	Media (SD)	Características
1	3.41 (0.58)	Blancos	1.50 (0.25)	Blancos algodonados
2	9 (0)	Amarillos	2.92 (0.21)	Blancos algodonados
3	9 (0)	Amarillos verdosos	4.24 (0.26)	Blancos algodonados
4	9 (0)	Verdosos y gris	5.37 (0.43)	Blancos algodonados
5	9 (0)	Verdosos y gris	6.90 (0.78)	Blancos algodonados
6	9 (0)	Verdosos y gris	7.83 (0.63)	Blancos algodonados
7	9 (0)	Verdosos y gris	8.69 (0.59)	Amarillos algodonados

#### 4.3. Capacidad antagonica de *T. reesei* C2A sobre *F. oxysporum* F1.

La inhibición del crecimiento se calculó utilizando mediciones de crecimiento radial de los días 1, 2 y 3. El crecimiento radial de los días 4 a 7 no se pudo medir debido a que los micelios de *F. oxysporum* F1 crecieron en exceso en las placas. La inhibición aumentó con el tiempo, del 59% en el día 1 al 62% en los días 2 y 3. Estos resultados sugieren que *T. reesei*

(C2A) exhibió una fuerte actividad antagonista contra *F. oxysporum* F1, inhibiendo el crecimiento micelial y previniendo la esporulación. Por lo tanto, *T. reesei* (C2A) podría ser utilizado como control biológico para prevenir la marchitez causada por el *Fusarium*.

La escala adaptada de Ezziyani (Ezziyani et al. 2004) (Tabla 4.4) que se utilizó aplica índices que van desde 0-4 donde el grado de 3 es satisfactorio para el resultado de la capacidad antagonista. Esta fue determinada por las observaciones macroscópicas presentadas en el micoparasitismo debido a que se alteran las funciones biológicas del patógeno presentándose una total invasión y esporulación de *T. reesei* (C2A) sobre la colonia de *F. oxysporum*.

El efecto antagonista de *T. reesei* (C2A) contra *F. oxysporum* (F1) que se observó durante 3 días demostró que solo después del tercer día de incubación fue cuando las colonias de hongos comenzaron a competir por el espacio y los nutrientes, y el micelio de la cepa de biocontrol creció y esporuló sobre el patógeno, *T. reesei* (C2A) cubrió completamente la placa de Petri incluyendo 1/4 de *F. oxysporum* (F1) (Figura 4.8). El micelio de *Trichoderma* cambió de color de verdoso a grisáceo e invadió del 50 al 100% de la colonia de *Fusarium*. *T. reesei* (C2A) experimentó un crecimiento micelial exponencial de 3,41 cm en el día 1 a 9 cm.

**Tabla 4.4** Resultados de la capacidad antagonista de *Trichoderma* sobre *F. oxysporum*  
(Mohammed Ezziyani et al. 2004).

Día	Capacidad Antagónica	Antagonista	Antagonismo
Día 1 y Día 2	Ninguna invasión de la superficie de la colonia de <i>F. oxysporum</i>		0
Día 3 y Día 4	Invasión de ¼ de la superficie de la colonia de <i>F. oxysporum</i>		1
Día 5	Invasión de ½ de la superficie de la colonia de <i>F. oxysporum</i> .	<i>T. reesei</i>	2
Día 6	Total invasión a la colonia de <i>F. oxysporum</i>		3
Día 7	Total invasión de la colonia de <i>F. oxysporum</i> con esporulación		4

En la Figura 4.8 podemos observar el crecimiento del hongo antagonista *Trichoderma* sobre la superficie del Agar y el recubrimiento al *F. oxysporum*.



**Figura 4.8** Evolución antagonista desde el día 1 al 7 en PDA.

#### 4.4. Concentración Mínima Inhibitoria de tres fungicidas

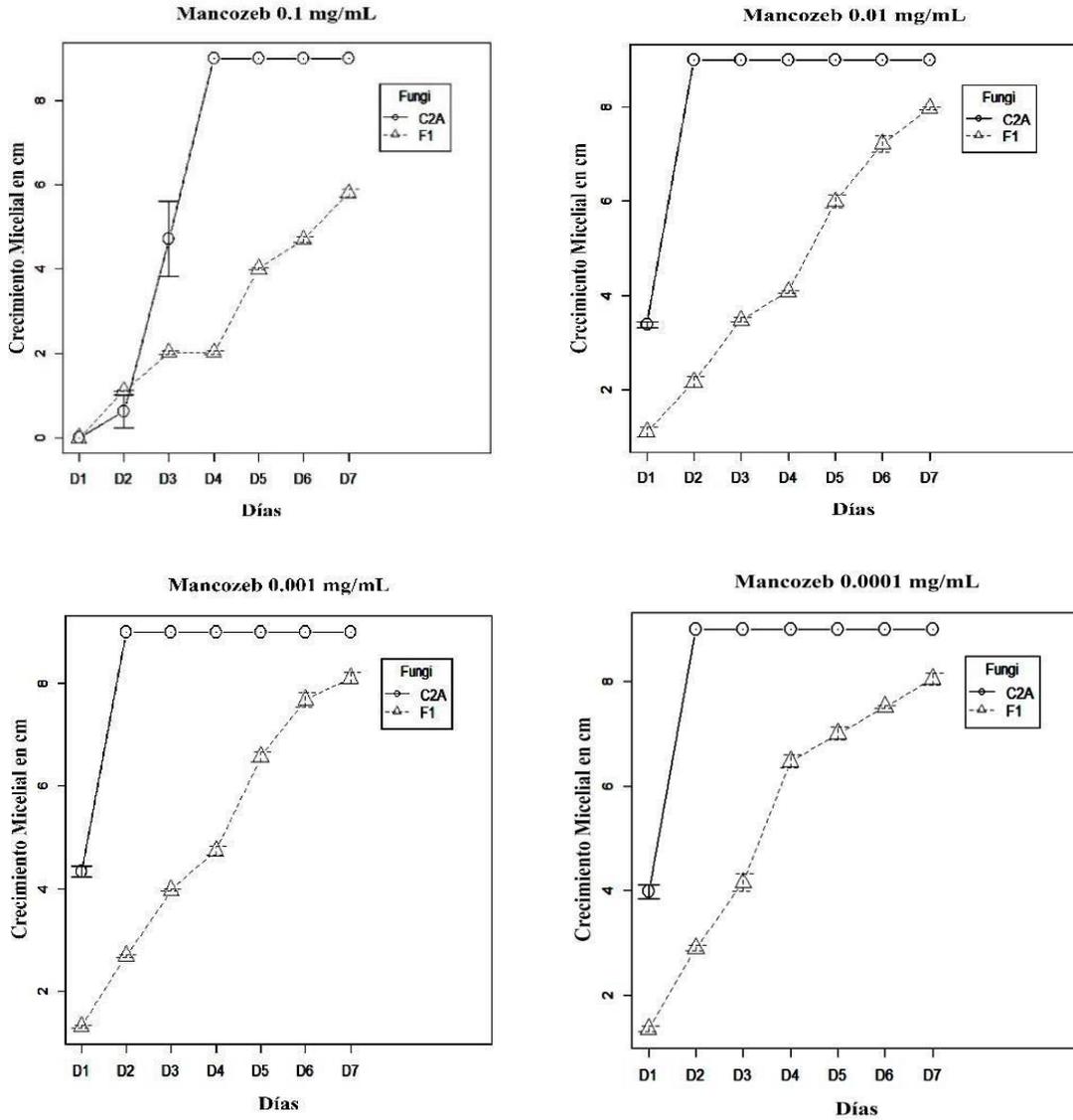
El crecimiento del hongo benéfico *Trichoderma* fue diferente según la concentración de fungicida al que fue expuesto (0.1 mg/mL, 0.01 mg/mL, 0.001 mg/mL y 0.0001 mg/mL). Además, para determinar la concentración necesaria para reducir significativamente el crecimiento del hongo patógeno se comparó el diámetro de crecimiento del hongo patógeno los días 1 (inicial) y 7 (final).

Los resultados muestran que el crecimiento de *Trichoderma* aumentó significativamente cuando está expuesto a las concentraciones altas (0.1 mg/mL) de Mancozeb y Clorotalonil (valor de  $p < 0.0001$ ), mientras que al estar expuesto a Propiconazol a 0.1mg/mL su inhibición es completa por lo que no le permite inhibir el crecimiento de *F. oxysporum*. El crecimiento de *Trichoderma* aumentó significativamente para las concentraciones más diluidas del fungicida como lo son de 0.001 mg/mL y 0.0001 mg/mL (valor de  $p < 0.0001$ ).

El crecimiento de *F. oxysporum* en presencia de *Trichoderma* se vio reducido de 8.69 cm a 5.8 cm en los 7 días de incubación expuesto a Mancozeb con la concentración de 0.1 mg/mL, en el caso de Clorotalonil también con una concentración de 0.1Mg/mL paso de 8.69 cm a 3.51 cm, y con el fungicida Propiconazol 0.1Mg/mL paso de 8.69 cm a 3.05 cm.

Esto último muestra la reducción del crecimiento únicamente del fungicida ya que el hongo benéfico no reportó crecimiento alguno. La inhibición del crecimiento por efecto del hongo benéfico y del fungicida se reporta en la concentración de Propiconazol de 0.01 mg/mL desde 8.69 cm a 5.37 cm y en la concentración 0.001 mg/mL desde 8.69 cm a 7.42 cm respectivamente. La Figura 4.9, 4.10, y 4.11 muestra el crecimiento micelial de *F. oxysporum* representados en líneas a través del tiempo en los días 1 (inicial) -7 (final), y la Tabla 4.5 muestra los cambios en los diámetros de crecimiento en cm.

Para seleccionar la concentración mínima inhibitoria se seleccionó aquella que no inhiba a *Trichoderma* (hongo benéfico) e inhiba significativamente el crecimiento del hongo patógeno (*Fusarium*) basados en las curvas de crecimiento y comparando las medias de crecimiento (DE) entre día 1 y 7 (y su significancia).



**Figura 4.9** Gráfico de medias del crecimiento micelial de *T. reesei* (C2A) y *F. oxysporum* (F1) suplementadas con 4 concentraciones diferentes de Mancozeb (0,1, 0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL) después de 7 días de incubación a 28°C.

**Tabla 4.5** Diámetro de crecimientos en cm (DE) de los hongos *Trichoderma* (C2A) y de *Fusarium* (F1) con Mancozeb, mostrando las diferencias al comparar las letras entre los días 1 y 7 (sig 95%).

## Control

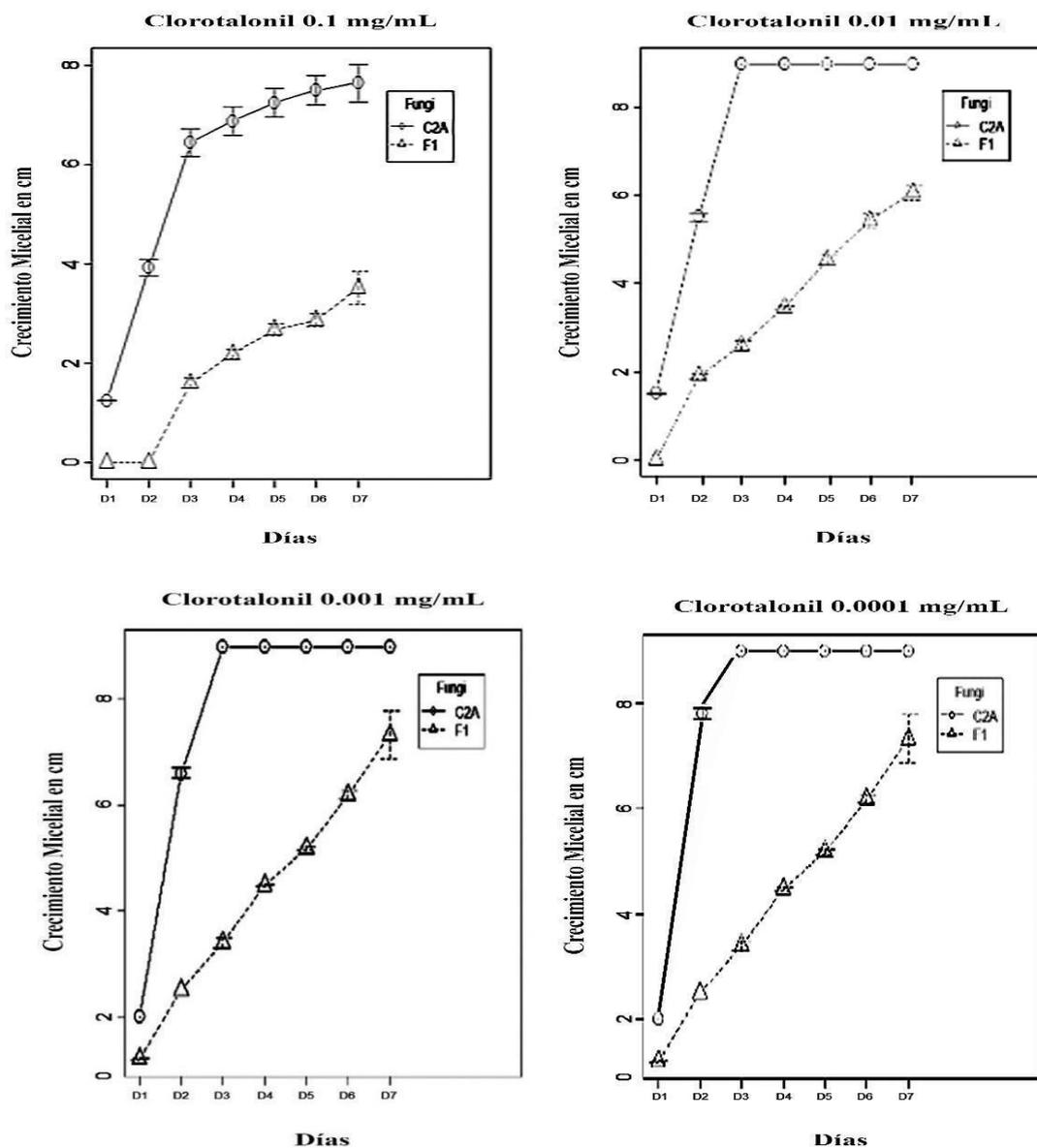
## Mancozeb

<i>Hongo</i>	<i>PDA</i>	<i>0.1</i>	<i>0.01</i>	<i>0.001</i>	<i>0.0001</i>
<b><i>Trichoderma</i></b>					
Día 1	3.41 (0.58)	0.00 (0) <sup>a</sup>	3.38 (0.14) <sup>a</sup>	3.98 (0.31) <sup>a</sup>	4.33 (0.25) <sup>a</sup>
Día 2	9 (0)	0.63 (0.86) <sup>a</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>
Día 3	9 (0)	4.72 (1.98) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>
Día 4	9 (0)	9 (0) <sup>c</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>
Día 5	9 (0)	9 (0) <sup>c</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>
Día 6	9 (0)	9 (0) <sup>c</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>
Día 7	9 (0)	9 (0) <sup>c</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>	9 (0) <sup>b</sup>
<b><i>Fusarium</i></b>					
Día 1	1.50 (0,25)	0.00 (0) <sup>a</sup>	1.11 (0.23) <sup>a</sup>	1.31 (0.05) <sup>a</sup>	1.36 (0.12) <sup>a</sup>
Día 2	2.92 (0,21)	1.11 (0.02) <sup>b</sup>	2.17 (0.23) <sup>b</sup>	2.68 (0.07) <sup>b</sup>	2.90 (0.12) <sup>b</sup>
Día 3	4.24 (0.26)	2.02 (0.1) <sup>c</sup>	3.48 (0.10) <sup>c</sup>	3.97 (0.04) <sup>c</sup>	4.15 (0.38) <sup>c</sup>
Día 4	5.37 (0.43)	2.02 (0.1) <sup>c</sup>	4.08 (0.07) <sup>d</sup>	4.73 (0.20) <sup>d</sup>	6.46 (0.28) <sup>d</sup>
Día 5	6.90 (0.78)	4.01 (0.1) <sup>d</sup>	5.99 (0.30) <sup>e</sup>	6.56 (0.21) <sup>e</sup>	7.00 (0.27) <sup>e</sup>
Día 6	7.83 (0.63)	4.70 (0.1) <sup>e</sup>	7.21 (0.39) <sup>f</sup>	7.67 (0.32) <sup>f</sup>	7.51 (0.05) <sup>f</sup>
Día 7	8.69 (0.59)	5.8 (0.2) <sup>f</sup>	7.97 (0.04) <sup>g</sup>	8.10 (0.23) <sup>g</sup>	8.05 (0.25) <sup>g</sup>

La concentración mínima inhibitoria de mancozeb se determinó midiendo el crecimiento micelial de cada cepa fúngica por separado durante 7 días, la comparación del crecimiento micelial en cm se realizó utilizando una prueba ANOVA en R Studio. Este análisis se lo realizó de forma independiente para las cuatro concentraciones de mancozeb (0,1, 0,01, 0,001, 0,0001 mg/mL). En todos los valores medios se utilizaron gráficos de medias para ilustrar el crecimiento micelial a lo largo del tiempo.

Utilizando método de Tukey, determinamos que durante el ensayo de 7 días había diferencias significativas entre el crecimiento micelial del agente de biocontrol y la cepa fitopatógena. El crecimiento micelial de *T. reesei* C2A no se vio afectado significativamente por ninguna de las concentraciones utilizadas (0,1, 0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL) ( $P < 0,0001$ ). Aunque cuando se utilizaron concentraciones de mancozeb concentraciones de (0,1, 0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL) en el medio de cultivo, el

crecimiento micelial de *F. oxysporum* F1 se redujo en un 33,2, 8,3, 6,8 y 7,4%, respectivamente, en comparación con el control positivo. El crecimiento del fitopatógeno se redujo significativamente (33,2%,  $P < 0,0001$ ) sólo cuando se utilizó 0,1 mg/mL del fungicida en el medio de acuerdo con los resultados *F. oxysporum* F1 se vio significativamente a 0,1 mg/mL por lo tanto fue seleccionada para realizar los ensayos sinérgicos.



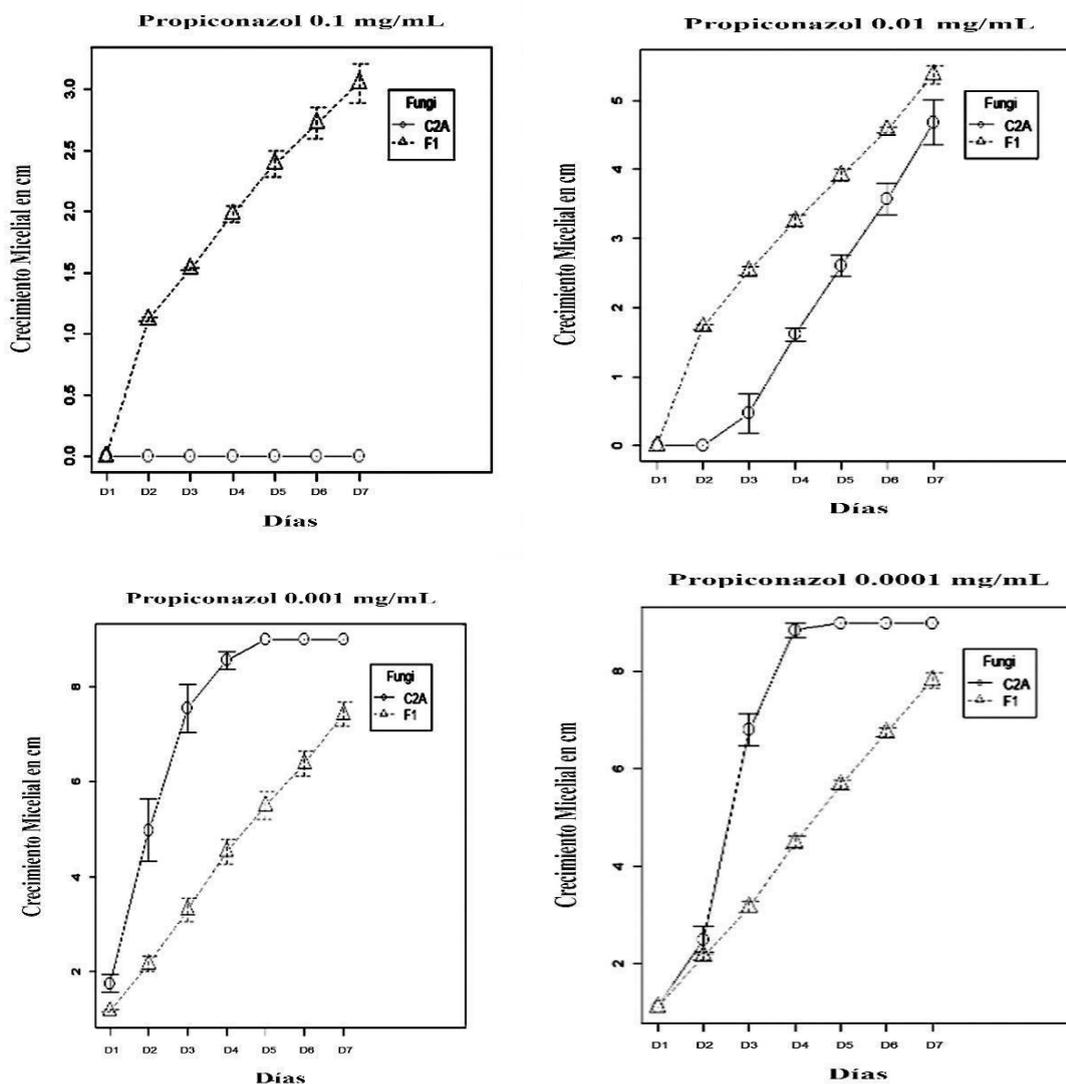
**Figura 4.10.** Gráfico de medias del crecimiento micelial de *T. reesei* (C2A) y *F. oxysporum* (F1) suplementadas con 4 concentraciones diferentes de Clorotalonil (0,1, 0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL) después de 7 días de incubación a 28°C.

**Tabla 4.6.** Diámetro de crecimientos en cm (DE) de los hongos *Trichoderma* (C2A) y de *Fusarium* (F1) con Clorotalonil, mostrando las diferencias al comparar las letras entre los días 1 y 7 (sig 95%).

	Control	Clorotalonil			
<i>Hongo</i>	<i>PD</i>	<i>0.1</i>	<i>0.01</i>	<i>0.001</i>	<i>0.0001</i>
<b><i>Trichoderma</i></b>					
Día 1	3.41 (0.58)	1.25 (0.04) a	1.51 (0.02) a	2.00 (0) a	2.35 (0.18) a
Día 2	9 (0)	3.92 (0.36) b	5.52 (0.21) b	6-6 (0.22) b	7.82 (0.34) b
Día 3	9 (0)	6.44 (0.62) c	9 (0) c	9 (0) c	9 (0) c
Día 4	9 (0)	6.87 (0.64) c	9 (0) c	9 (0) c	9 (0) c
Día 5	9 (0)	7.24 (0.64) c	9 (0) c	9 (0) c	9 (0) c
Día 6	9 (0)	7.49 (0.66) c	9 (0) c	9 (0) c	9 (0) c
Día 7	9 (0)	7.64 (0.85) c	9 (0) c	9 (0) c	9 (0) c
<b><i>Fusarium</i></b>					
Día 1	1.50 (0,25)	0.00 (0) a	0.00 (0) a	1.19 (0.02) a	1.16 (0.04) a
Día 2	2.92 (0,21)	0.00 (0) a	1.90 (0) b	2.50 (0) b	2.39 (0.21) b
Día 3	4.24 (0.26)	1.60 (0.22) b	2.60 (0.22) c	3.40 (0.22) c	3.44 (0.13) c
Día 4	5.37 (0.43)	2.18 (0.20) bc	3.46 (0.08) d	4.47 (0.04) d	4.57 (0.22) d
Día 5	6.90 (0.78)	2.68 (0.26) cd	4.55 (0.25) e	5.17 (0.15) d	5.26 (0.16) d
Día 6	7.83 (0.63)	2.87 (0.30) de	5.44 (0.36) f	6.18 (0.17) e	6.41 (0.51) e
Día 7	8.69 (0.59)	3.51 (0.74) e	6.07 (0.38) g	7.33 (1.00) f	7.45 (0.87) f

Las estimaciones resultantes de los efectos del tratamiento no reflejan diferencias significativas entre la dosis 0,001mg/mL y la dosis 0,0001mg/mL al nivel de significación del 5%. Con el fin de realizar interpretaciones simultáneas, llevamos a cabo comparaciones por pares entre las medias marginales estimadas utilizando el método de Tukey. . El crecimiento

micelial de *T. reesei* C2A no se vio afectado significativamente por ninguna de las concentraciones utilizadas (0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL) en el caso de la concentración (0,1 mg/mL) se presentó una mínima disminución en *Trichoderma reesei* y que presentó una mayor inhibición en el crecimiento micelial de *F. oxysporum* F1 el cual se redujo en un 59,6, 30,1, 15,6 y 14,2%, respectivamente, en comparación con el control positivo. El crecimiento del fitopatógeno se redujo significativamente (59.6%,  $P < 0,0001$ ) sólo cuando se utilizó 0,1 mg/mL del fungicida en el medio de acuerdo con los resultados *F. oxysporum* F1 se vio significativamente a 0,1 mg/mL por lo tanto fue seleccionada para realizar los ensayos sinérgicos.



**Figura 4.11.** Gráfico de medias del crecimiento micelial de *T. reesei* (C2A) y *F. oxysporum* (F1) suplementadas con 4 concentraciones diferentes de Propiconazol (0,1, 0,01, 0,001 y 0,0001 mg/mL) después de 7 días de incubación a 28°C.

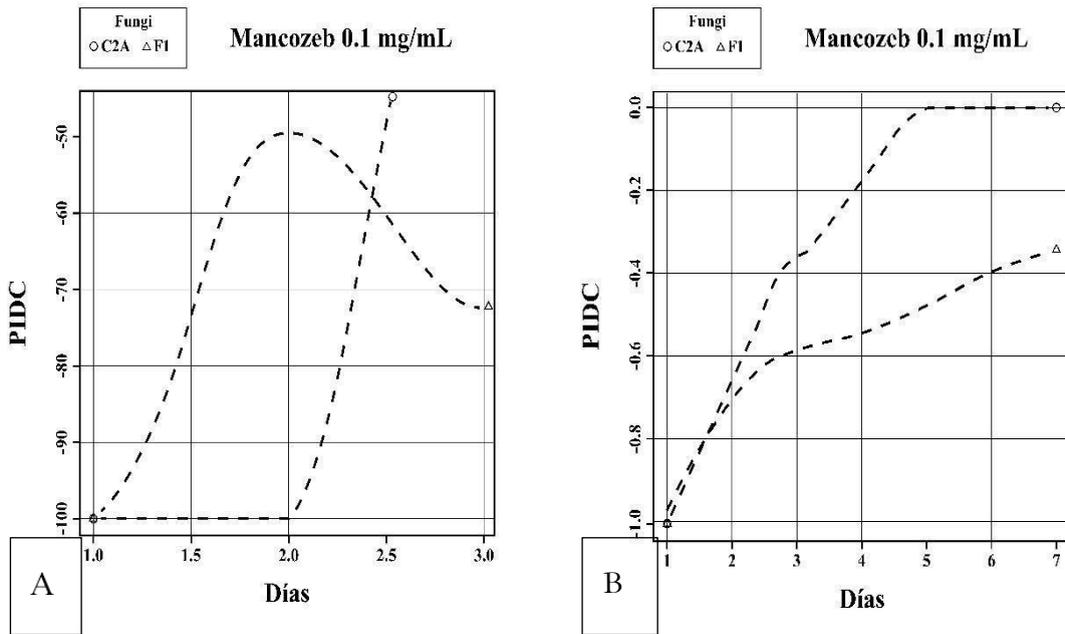
**Tabla 4.7.** Diámetro de crecimientos en cm (DE) de los hongos *Trichoderma* (C2A) y de *Fusarium* (F1) con Propiconazol, mostrando las diferencias al comparar las letras entre los días 1 y 7 (sig 95%).

	Control	Propiconazol			
	<i>Mean</i>	<i>0.1</i>	<i>0.01</i>	<i>0.001</i>	<i>0.0001</i>
<b><i>Trichoderma</i></b>					
Day 1	3.41 (0.58)	0.00 (0)	0.00 (0) <sup>a</sup>	1.76 (0.41) <sup>a</sup>	1.10 (0) <sup>a</sup>
Day 2	9 (0)	0.00 (0)	0.00 (0) <sup>a</sup>	4.98 (1.48) <sup>b</sup>	2.48 (0.63) <sup>b</sup>
Day 3	9 (0)	0.00 (0)	0.47 (0.64) <sup>a</sup>	7.55 (1.13) <sup>c</sup>	6.80 (0.73) <sup>c</sup>
Day 4	9 (0)	0.00 (0)	1.61 (0.20) <sup>b</sup>	8.55 (0.41) <sup>c</sup>	8.85 (0.33) <sup>d</sup>
Day 5	9 (0)	0.00 (0)	2.60 (0.33) <sup>c</sup>	9.00 (0) <sup>c</sup>	9.00 (0) <sup>d</sup>
Day 6	9 (0)	0.00 (0)	3.57 (0.51) <sup>d</sup>	9.00 (0) <sup>c</sup>	9.00 (0) <sup>d</sup>
Day 7	9 (0)	0.00 (0)	4.68 (0.72) <sup>e</sup>	9.00 (0) <sup>c</sup>	9.00 (0) <sup>d</sup>
<b><i>Fusarium</i></b>					
Day 1	1.50 (0,25)	0.00 (0) <sup>a</sup>	0.00(0) <sup>a</sup>	1.18 (0.05) <sup>a</sup>	1.10 (0) <sup>a</sup>
Day 2	2.92 (0,21)	1.12 (0.02) <sup>b</sup>	1.72 (0.09) <sup>b</sup>	2.17 (0.35) <sup>a</sup>	2.15 (0.17) <sup>b</sup>
Day 3	4.24 (0.26)	1.53 (0.02) <sup>b</sup>	2.53 (0.13) <sup>c</sup>	3.30 (0.54) <sup>b</sup>	3.16 (0.25) <sup>c</sup>
Day 4	5.37 (0.43)	1.98 (0.14) <sup>c</sup>	3.25 (0.20) <sup>d</sup>	4.53 (0.57) <sup>c</sup>	4.49 (0.27) <sup>d</sup>
Day 5	6.90 (0.78)	2.38 (0.24) <sup>cd</sup>	3.91 (0.19) <sup>e</sup>	5.50 (0.62) <sup>cd</sup>	5.67 (0.20) <sup>e</sup>
Day 6	7.83 (0.63)	2.72(0.29) <sup>de</sup>	4.57 (0.09) <sup>f</sup>	6.38 (0.57) <sup>d</sup>	6.75(0.19) <sup>f</sup>
Day 7	8.69 (0.59)	3.05 (0.36) <sup>e</sup>	5.37 (0.30) <sup>g</sup>	7.42 (0.55) <sup>e</sup>	7.82 (0.34) <sup>g</sup>

El crecimiento micelial de *T. reesei* C2A se vio afectado por las dos primeras concentraciones utilizadas (0,1 , 0,01 mg/mL) en el caso de las concentración (0,001 y 0,0001 mg/mL) no presentaron una afectación de crecimiento en nuestro hongo benéfico en el caso del hongo patógeno se presentó una mayor inhibición en el crecimiento micelial presentando una reducción del 64,9, 38,2 % pero fueron descartadas en vista de que se evidencia una afectación directa con el hongo benéfico en el caso de las concentraciones (0,001 y 0,0001 mg/mL) los porcentajes obtenido fueron 14,1 y 10,1% . El crecimiento del fitopatógeno presento una disminución 14,1 % cuando se utilizó 0,001 mg/mL del fungicida en el medio de acuerdo con los resultados *F. oxysporum* F1 sin que se inhiba el crecimiento de *T. reesei* C2A .

## 4.5. Porcentaje de Inhibición de Diámetro de Crecimiento

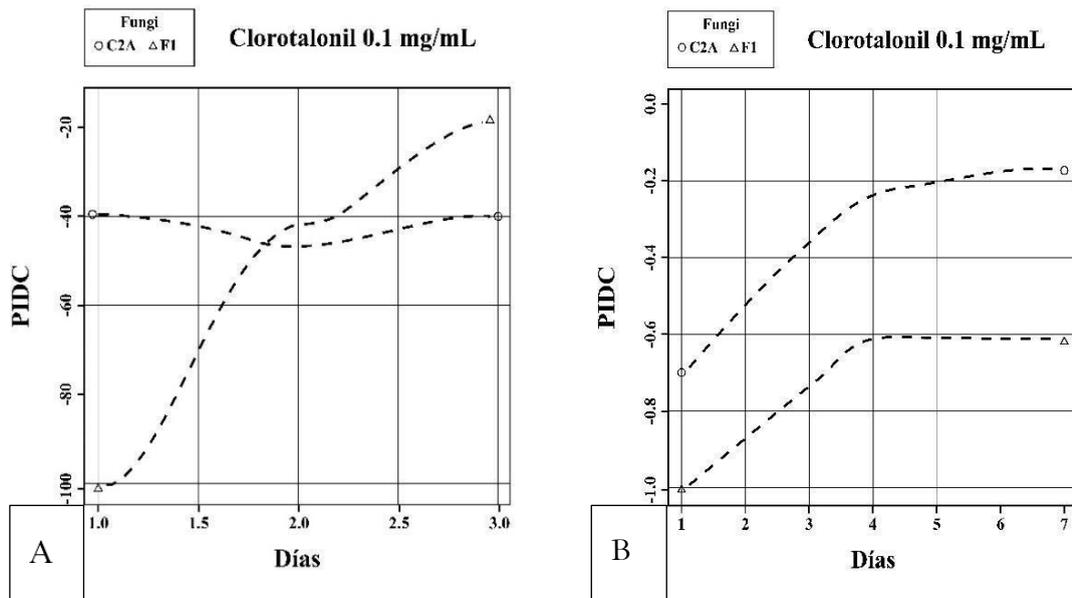
La interacción entre ambos hongos se midió mediante porcentaje de Inhibición del crecimiento (PIDC) en PDA con 4 concentraciones diferentes de Mancozeb, Clorotalonil y Propiconazol. Según los datos del experimento anterior se seleccionó las concentraciones de mancozeb para 0.1 mg/mL. La Figura 4.12 (B), muestra que con el tiempo el agente de biocontrol creció más rápido que la cepa patógena en presencia de 0,1 mg/ml de mancozeb. La figura antes mencionada nos indica que a la misma concentración 0,1 mg/ml de mancozeb el porcentaje de inhibición sobre *Fusarium* tuvo efecto inhibitorio desde el día 1 hasta el día 7, lo que significa que el crecimiento micelial de *F. oxysporum* (F1) se (ve afectado) por lo tanto inhibe significativamente en comparación con el control positivo, mientras que desde el día 4, el crecimiento de *T. reesei* (C2A) no se vio afectado por la presencia del fungicida. La figura 4.12 (A), solo presenta la inhibición dentro de los tres primeros días.



**Figura 4.12** PIDC de *Trichoderma* (C2A) y *Fusarium* (F1) creciendo solos (A) y cuando están confrontados (B) en presencia de Mancozeb 0.1 mg/ml.

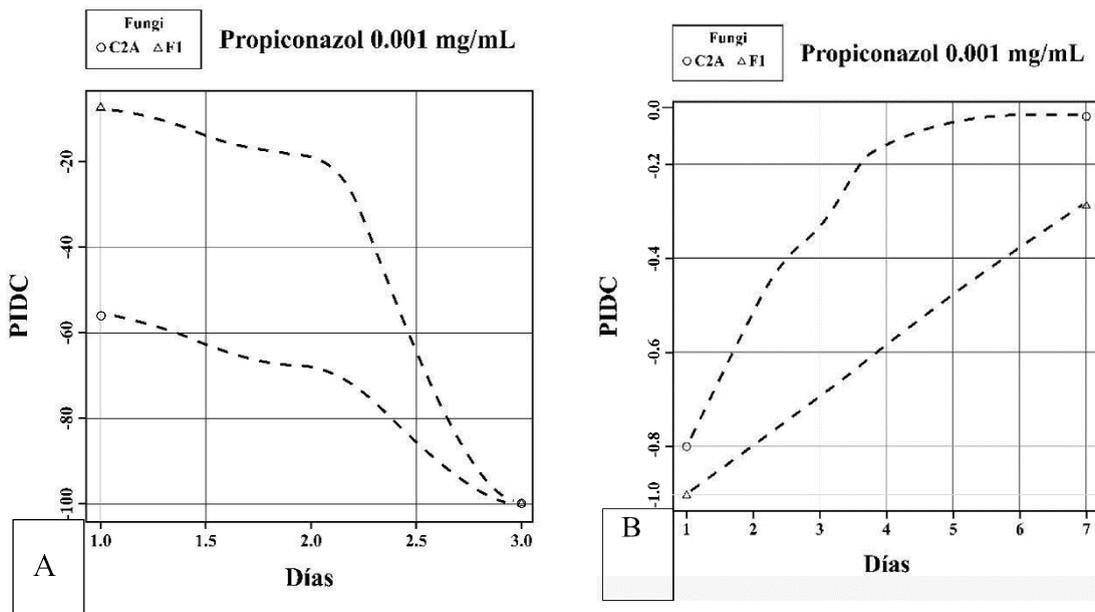
Según los datos del experimento anterior se seleccionó la concentración de clorotalonil para 0.1 mg/mL. La figura 4.13 (A), presenta el crecimiento de *Trichoderma* (C2A) y *Fusarium* (F1) creciendo solos. La Figura 4.13 (B), muestra que desde el día 1 hasta el día 7 el agente de biocontrol *T. reesei* no se ve afectado por el fungicida clorotalonil a una concentración 0,1 mg/mL, por lo tanto no interfiere con su desarrollo, y a su vez puede contribuir al control de *F. oxysporum* (F1). Se observa que el crecimiento micelial de *F. oxysporum* (F1) presenta una mayor inhibición los primeros 4 días, mientras que desde el día 4, el crecimiento de *T. reesei* (C2A) no se vio afectado por la presencia del fungicida.

**Figura 4.13** PIDC de *Trichoderma* (C2A) y *Fusarium* (F1) creciendo solos (A) y cuando están confrontados (B) en presencia de Clorotalonil 0.1 mg/ml.



Para el último análisis se seleccionó la concentración de 0.001 mg/mL para el fungicida propiconazol. La Figura 4.14 (B), muestra que con el tiempo el agente de biocontrol *T. reesei* (C2A) no se ve limitada su efectividad en presencia de 0.001 mg/ml del fungicida Propiconazol. La figura antes mencionada nos indica que la concentración utilizada inhibe crecimiento micelial de *F. oxysporum* (F1) y el control biológico podría contribuir a potenciar el control del fitopatógeno.

**Figura 4.14** PIDC de *Trichoderma* (C2A) y *Fusarium* (F1) creciendo solos (A) y cuando están confrontados (B) en presencia de Propiconazol 0.001 mg/mL.



#### 4.6 Sinergismo entre *T. reesei* C2A y cada uno de los tres fungicidas

El efecto sinérgico entre el hongo benéfico (*T. reesei*) y del agente fungicida (se realizaron pruebas con tres fungicidas en concentraciones seleccionadas a partir de los experimentos anteriores las cuales son 0.1 mg/mL para Mancozeb y Clorotalonil, y 0.001 para Propiconazol fueron calculadas y se presentan en las tres tablas a continuación.

**Tabla 4.8** Porcentaje de inhibición por ambos agentes: biológico (*T. reesei*) y fungicida (Mancozeb 0.1%) sobre *F. oxysporum* (F1).

Día	Día	Código	Hongo	*PIDC(M0,1mg/mL)	PIDC (M0.1mg/mL)
D1	1	D1 F1 R1	F1	100%	100 %
D1	1	D1 F1 R2	F1	100%	
D1	1	D1 F1 R3	F1	100%	
D1	1	D1 F1 R4	F1	100%	
D1	1	D1 F1 R5	F1	100%	
D2	2	D2 F1 R1	F1	63%	63%
D2	2	D2 F1 R2	F1	62%	
D2	2	D2 F1 R3	F1	63%	
D2	2	D2 F1 R4	F1	63%	
D2	2	D2 F1 R5	F1	63%	
D3	3	D3 F1 R1	F1	48%	53%
D3	3	D3 F1 R2	F1	50%	
D3	3	D3 F1 R3	F1	56%	
D3	3	D3 F1 R3	F1	52%	
D3	3	D3 F1 R3	F1	58%	

\*(PIDC) Porcentaje de Inhibición del Diámetro del Crecimiento

En análisis del crecimiento a través del tiempo, demuestra la inhibición del hongo patógeno por efecto del hongo benéfico en sinergismo con el fungicida. El efecto de la inhibición de crecimiento del *T. reesei* C2A sobre *F. oxysporum* (F1) en PDA que contiene 0.1 mg/mL del fungicida (tanto para Mancozeb como para Clorotalonil), muestra una inhibición del 100% dentro de las 24 primeras horas (Tablas 4.8 y 4.9), lo cual no fue así para Propiconazol. En la Tabla 4.10 se puede observar que después de las 24 primeras horas de crecimiento en las placas duales con propiconazol al 0.001mg/mL, se observa solo 31% de inhibición del crecimiento de *F. oxysporum* (F1).

**Tabla 4.9 Porcentaje de inhibición por ambos agentes: biológico (*T. reesei*) y fungicida (Clorotalonil 0.1%) sobre *F. oxysporum* (F1).**

Día	Día	Código	Hongo	*PIDC(C0,1mg/mL)	PIDC (C0.1mg/mL)
D1	1	D1 F1 R1	F1	100%	100 %
D1	1	D1 F1 R2	F1	100%	
D1	1	D1 F1 R3	F1	100%	
D1	1	D1 F1 R4	F1	100%	
D1	1	D1 F1 R5	F1	100%	
D2	2	D2 F1 R1	F1	100%	100%
D2	2	D2 F1 R2	F1	100%	
D2	2	D2 F1 R3	F1	100%	
D2	2	D2 F1 R4	F1	100%	
D2	2	D2 F1 R5	F1	100%	
D3	3	D3 F1 R1	F1	57%	63%
D3	3	D3 F1 R2	F1	63%	
D3	3	D3 F1 R3	F1	63%	
D3	3	D3 F1 R3	F1	67%	
D3	3	D3 F1 R3	F1	66%	

\*(PIDC) Porcentaje de Inhibición del Diámetro del Crecimiento

Al pasar las primeras 48 horas, la inhibición de crecimiento en las placas duales se redujo del 100% al 63% en presencia de Mancozeb al 0.1mg/mL, mientras que para Clorotalonil al 0.1mg/mL la inhibición se mantuvo al 100 %. Para Propiconazol al 0.001mg/mL la inhibición se redujo del 31% al 26%.

**Tabla 4.10** Porcentaje de inhibición por ambos agentes: biológico (*T. reesei*) y fungicida (Propiconazol 0.001%) sobre *F. oxysporum* (F1).

Día	Día	Código	Hongo	*PIDC(C0,1mg/mL)	PIDC (P0.001mg/mL)
D1	1	D1 F1 R1	F1	33%	31%
D1	1	D1 F1 R2	F1	39%	
D1	1	D1 F1 R3	F1	36%	
D1	1	D1 F1 R4	F1	26%	
D1	1	D1 F1 R5	F1	20%	
D2	2	D2 F1 R1	F1	33%	26%
D2	2	D2 F1 R2	F1	41%	
D2	2	D2 F1 R3	F1	40%	
D2	2	D2 F1 R4	F1	0%	
D2	2	D2 F1 R5	F1	16%	
D3	3	D3 F1 R1	F1	33%	23%
D3	3	D3 F1 R2	F1	33%	
D3	3	D3 F1 R3	F1	33%	
D3	3	D3 F1 R3	F1	6%	
D3	3	D3 F1 R3	F1	23%	

\*PIDC) Porcentaje de Inhibición del Diámetro del Crecimiento

Luego de 36 horas de incubación, la inhibición de los 3 fungicidas decayó a cifras entre el 53, 63, y 23 % por acción sinérgica del hongo benéfico y de Mancozeb (0.1 mg/mL), Clorotalonil (0.1mg/mL) y Propiconazol (0.001 mg/mL), respectivamente.

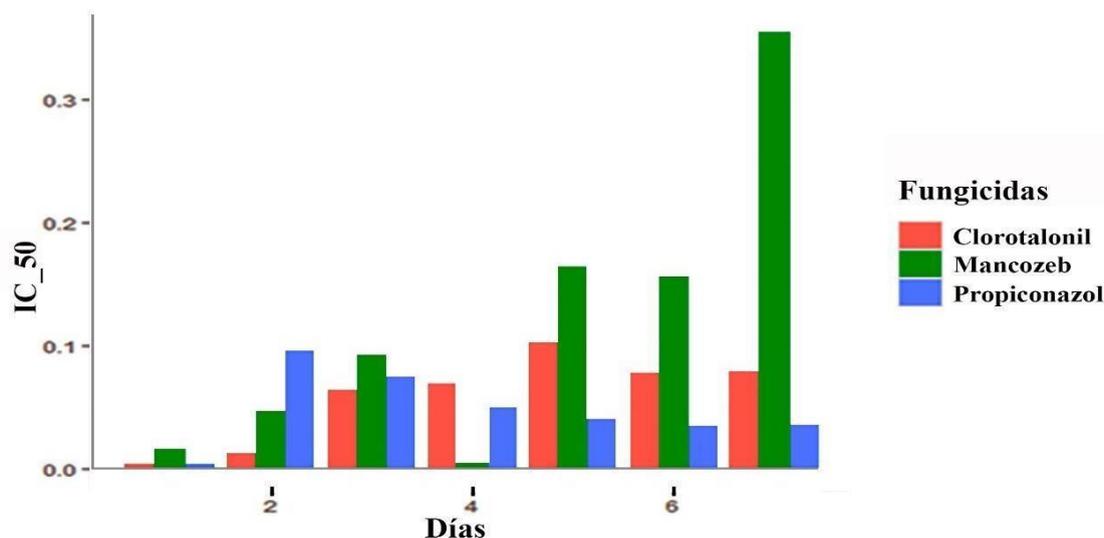
La cepa de biocontrol *Trichoderma reesei* C2A obtenida de la Colección de Cultivos Microbianos del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, mostró bajo condiciones *in vitro* actividad micoparasitaria, reduciendo el crecimiento micelial de

*F. oxysporum* (F1). Los ensayos sinérgicos demostraron que cuando el medio de crecimiento se suspende con bajas concentraciones de mancozeb (0,1 mg/mL), clorotalonil (0,1 mg/mL) y propiconazol (0,001mg/mL) combinado con los discos de la cepa de biocontrol *T. reesei* C2A, la capacidad micoparasitaria de la cepa de biocontrol se potenciaba.

Estos resultados sugieren que *T. reesei* C2A podría utilizarse en combinación con los fungicidas seleccionados en este trabajo investigativo como una alternativa respetuosa con el medio ambiente para controlar el crecimiento de *F. oxysporum*, el agente causal de la marchitez por *Fusarium*, dado que los datos indican que esta cepa benéfica mantuvo su capacidad de inhibir el crecimiento del fitopatógeno *in vitro* en presencia de los diferentes fungicidas evaluados mostrando un efecto sinérgico de esta interacción, por lo tanto pudo realizar su efecto de control biológico en vista de que su actividad no se ve comprometida aunque existan moléculas remanentes de cualquiera de los fungicidas utilizados.

#### 4.7. Determinación del EC50 (o ED50) de los tres fungicidas para el control de *F. oxysporum*.

La evaluación de los fungicidas se realizó mediante la determinación del EC50 donde se determinó la concentración de fungicida a la cual el 50% de las esporas del hongo patógeno estudiado dejaba de germinar (EC50). Y determinar de esta manera si correspondían a un fungicida efectivo para el control del hongo patógeno.



**Figura 4.15** Determinación del EC50 de los fungicidas Mancozeb, Clorotalonil y Propiconazol para el control de *F. oxysporum*.

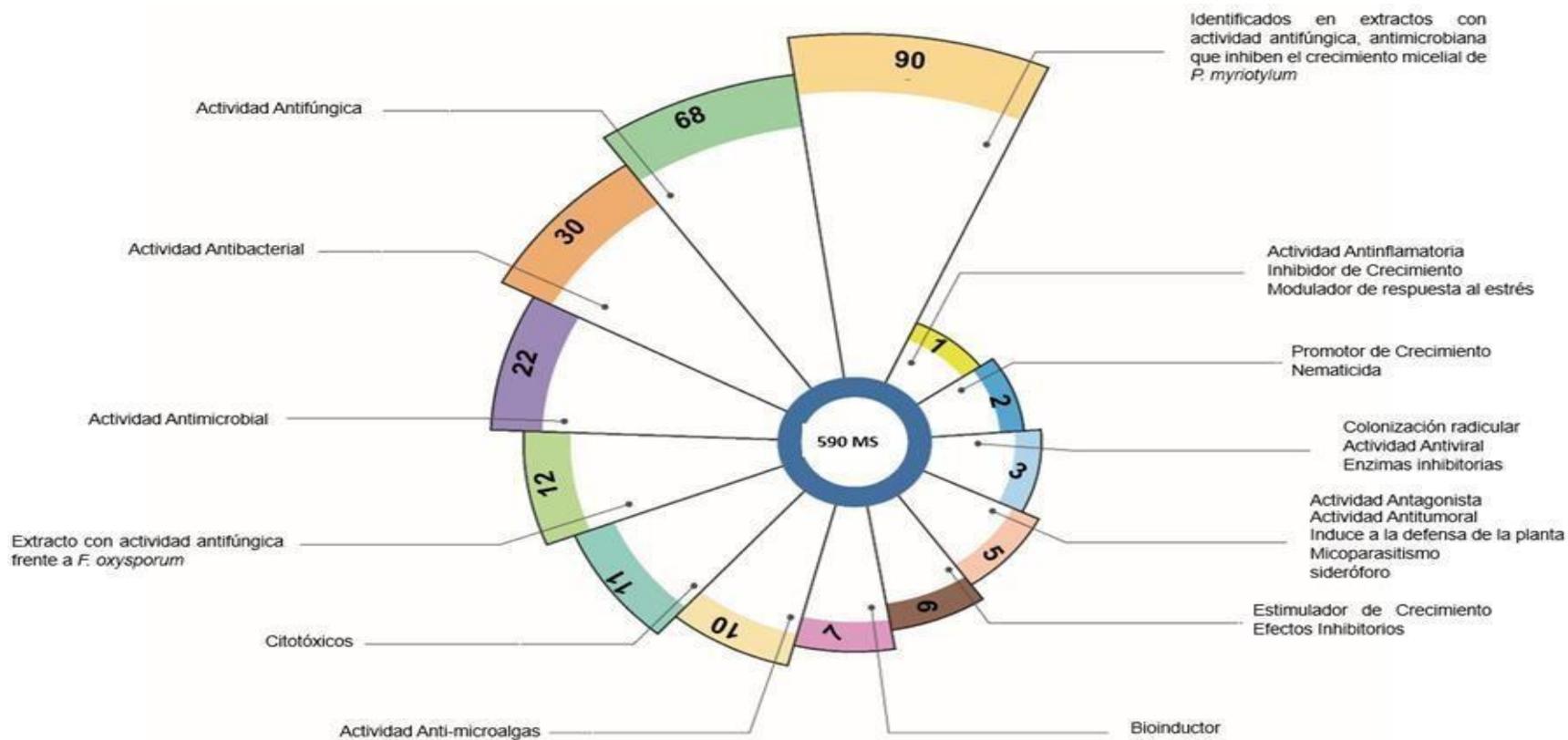
Se observó que los fungicidas utilizados en esta investigación en la determinación de EC50 sometidos a las diferentes concentraciones del compuesto de interés como es el caso de los 3 fungicidas mancozeb, clorotalonil y propiconazol identificando la dosis letal media (EC50) de cada uno de ellos, se observó que los valores de EC50 variaron significativamente entre los diferentes fungicidas junto a los días de estudio. En general, los valores de EC50 de los fungicidas disminuyeron a medida que aumentaba el tiempo de exposición al fungicida, esto debido a que la acción de la molécula iba actuando sobre el hongo patógeno. Se evidenció que en los últimos días del experimento el fungicida

propiconazol destacó en su eficacia a través del tiempo obteniendo el mejor resultado, el cual demostró ser el principio activo que mejor resultado obtuvo para controlar el crecimiento de *F. oxysporum*. Adicionalmente, los resultados muestran que los tres fungicidas tuvieron efecto inhibitorio sobre *F. oxysporum*. Asimismo, cabe destacar que mancozeb fue el seleccionado considerando que fue el mejor resultado observado en vista de que no afecta al hongo benéfico actuando junto a la molécula química.

## **4.8 Revisión bibliográfica de metabolitos secundarios y enzimas con actividad antifúngica**

La estrategia aplicada en esta investigación de acuerdo con la revisión bibliográfica nos indica que la inoculación es posible siempre y cuando el hongo utilizado como biopesticida tolere la concentración mínima del fungicida químico requerida para que este último no interfiera en su desarrollo, sino que contribuya a aumentar el control sobre la especie fitopatógena. En este escenario, tal y como proponen (Peláez - Álvarez et al. 2016) la presencia del pesticida químico retrasa el crecimiento del fitopatógeno proporcionando una ventaja en la competencia por espacio y nutrientes a favor del biopesticida.

La detección química del hongo competidor induciría la secreción de un arsenal de posibles metabolitos secundarios y enzimas que podrían actuar en ambos sentidos, facilitando la actividad del fungicida químico y estimulando el sistema de defensa de la planta (Saravanakumar et al. 2016; Contreras-Cornejo, Macías-Rodríguez, Del-Val1, et al. 2016).



**Figura 4.16** Principales temas de los artículos científicos que tratan sobre la actividad antifúngica de metabolitos de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium oxysporum*. Los artículos se aplicaron tres motores de búsqueda: Pubmed, Science Direct y Google Scholar. (González et al. 2023)

**Tabla 4.11** Metabolitos Secundarios de *Trichoderma harzianum* con actividad Antifúngica

Referencia	Metabolito Secundario (MSs)
	1,8-dihydroxy-3-methylanthraquinone
	1-hydroxy-3-methylanthraquinone
(Li, Li, and Zhang 2019)	1-hydroxy-3-methylanthraquinone
	6-methyl-1,3,8-trihydroxyanthraquinone
	6-methyl-1,3,8-trihydroxyanthraquinone
(Rahman Khan et al. 2017)	6-pentyl- $\alpha$ -pyrone
(Li, Li, and Zhang 2019)	8-dihydroxy-3-methylanthraquinone
(Rahman Khan et al. 2017)	Farzianopyridone
(Hu et al. 2019)	Glutaryl-CoA
(Li, Li, and Zhang 2019; R. A. A. Khan et al. 2020a; Tchameni et al. 2020; Vinale et al. 2014b; Manganiello et al. 2018; Dini et al. 2021; Lombardi et al. 2020; Contreras-Cornejo, Macías-Rodríguez, Del-Val, et al. 2016)	Harzianic acid
(Li, Li, and Zhang 2019; R. A. A. Khan et al. 2020a; Tchameni et al. 2020; Vinale et al. 2014b)	Harzianolide
(Li, Li, and Zhang 2019)	Hydroxyphenylethanol
(Hu et al. 2019)	N-Undecanoylglycine
(S. Zhang et al. 2020)	Pachybasin
(Hu et al. 2019)	Psoromic acid
(R. A. A. Khan et al. 2020a) (Rahman Khan et al. 2017)	Stigmasterol
(Vinale et al. 2014b)(R. A. A. Khan et al. 2020a)(Li, Li, and Zhang 2019)	T39butenolide
(Kumari and Srividhya 2020)	<i>Trichoderma</i> ol
(Li, Li, and Zhang 2019)	Trichodermin
(Li, Li, and Zhang 2019)	Trichokindin II*

Las Tablas 4.11, 4.12 y 4.13 muestra los metabolitos secundarios y las enzimas de *T. reesei*, *T. harzianum* y *T. spirale* que pueden usarse potencialmente para controlar *F. oxysporum*, respectivamente, debido a su actividad antifúngica.

Este resultado no debe entenderse como que sólo *T. harzianum* secreta todos estos compuestos. Los genes que codifican las proteínas responsables de la síntesis de estos MSs no suelen expresarse de forma constitutiva, sino debido a las interacciones con el patógeno en la rizosfera de la planta (Cucu et al. 2019; Damodaran et al. 2020). Como ejemplo, la tricoseína, presumiblemente secretada por *T. harzianum*, sólo se ha identificado en cultivos duales de *T. harzianum* y callos de *Catharathus roseus*, pero no en cultivos individuales (Vinale et al. 2014b). Sin embargo, la gran diversidad de metabolitos secundarios que se han aislado y caracterizado de *T. harzianum* es indicativa del gran valor potencial de este hongo como agente de biocontrol contra hongos fitopatógenos (Tabla 4.11).

Ensayos *in vitro* e *in vivo* han mostrado aislados de *T. harzianum* con mayor actividad inhibitoria frente a *F. oxysporum* que otras especies de *Trichoderma* (Álvarez- García et al. 2020). El potencial de biocontrol de *T. harzianum* contra *Fusarium Oxysporum* se ha demostrado *in vitro* e *in vivo* contra *F. oxysporum* en álamo (Zhu et al. 2020), jengibre (Das, Haridas, and Sabu 2018), pepino (Saravanakumar et al. 2016; Estifanos Tsegaye Redda et al. 2018), lechuga (Alamri et al. 2018), ñame blanco (Ao and Vi 2018), chile (Sinha, Singh, and Verma 2018), tomate y pepino (S. C. Chen et al. 2019).

No obstante, *T. reesei* es una de las principales especies fúngicas utilizadas en biotecnología industrial y se emplea con seguridad desde hace décadas en la producción de enzimas. A diferencia de *T. harzianum*, se considera que *T. reesei* tiene una producción limitada de micotoxinas (Frisvad et al. 2018). En la Tabla 4.12 se enumeran todos los metabolitos secundarios o enzimas asociados a la actividad antifúngica de *T. reesei*.

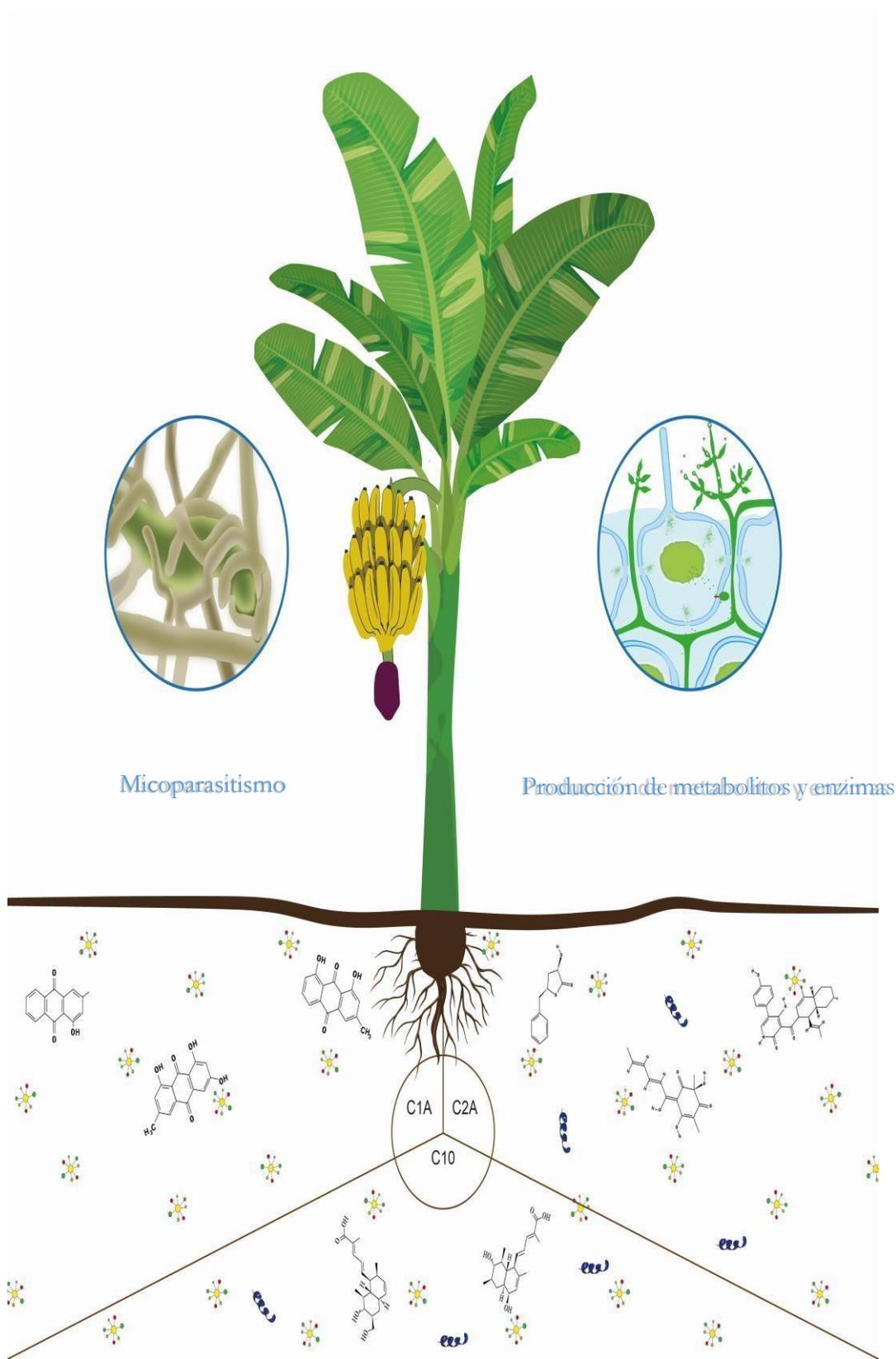
**Tabla 4.12** Metabolitos Secundarios o enzimas de *T. reesei* con actividad antifúngica

Referencia	Metabolito Secundario (MSs) o Enzima *
(Li, Li, and Zhang 2019)	Harzialactone A
(Shenouda, Ambilika, and Cox 2021)	Ilicicolin H
(Li, Li, and Zhang 2019; Z. Yang et al., n.d.)	Oxosorbicillinol
(Watts et al. 1988)	Trichodermin
(Pachauri, Sherkhane, and Mukherjee 2019)	Xylanase *
(Speckbacher 2018)	$\alpha$ -aminobutyric acid
(Mukherjee, Horwitz, and Kenerley 2012)(Marik et al. 2019)	$\alpha$ -aminoisobutyric acid

A pesar de que la literatura no enumera específicamente los MSs de *T. spirale* asociados con la actividad antifúngica, vale la pena enumerar las enzimas asociadas *Trichoderma spirale* (Tabla 4.13). Esta lista es corta, pero muestra el uso potencial de *T. spirale* en el control de hongos patógenos.

**Tabla 4.13** Enzimas asociadas con actividad antifúngica de *T. spirale*.

Referencia	Enzimas
(Baiyee et al. 2019)	Chitinase
(Abdel-Monaim et al. 2014)	Endochitinase
(Li, Li, and Zhang 2019)	Trichodemic acid
(Baiyee et al. 2019)	$\beta$ -1,3-Glucanase



**Fig. 4.17** *Trichoderma* spp. y su acción combinada de metabolitos secundarios (MSs) y enzimas

Fuente: Autor

## 4.9 Discusión

Actualmente en el Ecuador, estamos ante una amenaza inminente según la presencia confirmada de *Fusarium* R4T en Colombia, Perú y recientemente en Venezuela, lo que activa las alertas para aplicar controles más efectivos que los comúnmente son utilizados, en las últimas décadas las medidas de control para enfermedades fúngicas han dependido, en gran medida, de los tratamientos que incluyen desde el trabajo cultural hasta la aplicación de control biológico, aplicación de antifúngicos químicos y uso de plantas genéticamente modificadas.

Sin embargo, el uso de cualquier estrategia representa un riesgo para la salud humana o el medio ambiente. En respuesta de esto, tenemos la necesidad urgente de generar nuevas alternativas que nos permitan un manejo integrado para el control de *Fusarium*, debido a las pérdidas que pueda presentar en un cultivo infectado. En el presente trabajo se evaluó el control biológico usando el hongo benéfico *Trichoderma*, más específicamente la cepa *T. reesei* (C2A) como agente inhibidor del crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC 1) y posteriormente el potencial efecto sinérgico al actuar junto a un fungicida sintético comercial, utilizándose Mancozeb, Propiconazol y Clorotalonil en diferentes concentraciones para los ensayos.

El género *Trichoderma* es bien conocido como uno de los agentes de control biológico más útiles contra varios fitopatógenos utilizados en diferentes especies vegetales. *Trichoderma* ha contribuido en gran escala a la agricultura sostenible, resaltando su potencial como agente biocontrolador y promotor del crecimiento vegetal, haciendo de este una herramienta esencial en la protección de cultivos y la mejora de la salud del suelo. Es oportuno indicar que, *Trichoderma* hace referencia a un género de hongo ascomiceto cosmopolita que habita en el suelo y en la rizosfera de diversos cultivos, mismo que se ha destacado por su papel multifacético en la agricultura, ya que despliega mecanismos de acción que promueven el crecimiento vegetal y protección biológica contra patógenos (Dutta et al. 2023).

Estas actividades de biocontrol incluyen el micoparasitismo, la competencia y la antibiosis. El mecanismo de acción de *Trichoderma* es altamente agresivo al colonizar de manera que sus micelios se entrelazan en el suelo y la planta creando así una barrera efectiva contra el crecimiento de patógenos el cual es también inhibido por los metabolitos secundarios producidos por *Trichoderma*.

Antes de proceder con el estudio de los mecanismos de biocontrol, es imperante resaltar la adaptabilidad fenotípica que posee este género de hongos, misma que incluye un rápido crecimiento, alta capacidad de absorción de nutrientes y tolerancia a condiciones adversas, lo cual convierte al género *Trichoderma* en un competidor robusto en el ecosistema del suelo (Infante et al. 2009). Son Hongos con distribución mundial, tienen una reproducción asexual de acuerdo con la literatura se los considera mitóticos y clonales.

Morfológicamente se caracteriza por presentar conidióforos ramificados como un árbol pequeño, penachos compactados en forma de anillo con sistema de ramas irregular de manera piramidal, los cuales terminan en fiálides en forma de esporas asexuales o conidios, que pueden

emerger directamente del micelio. Clamidosporas intercalares, terminales y propágulos de tres tipos: hifas, clamidosporas y conidios.(Mesa Vanegas, Marín Pavas, and Calle Osorno 2020).

En este estudio, la cepa de biocontrol *T. reesei* C2A y la cepa patógena *F. oxysporum* F1 se caracterizaron en función de sus características macroscópicas y microscópicas. *T. reesei* C2A mostró un típico micelio algodonoso blanquecino que cambió a un color verdoso-grisáceo fotosensible después de la esporulación (es decir, después de 3 o 4 días de incubación). Además, también se observaron los micelios, conidióforos y conidios lo cual coincide con la mayoría de los de los argumentos citados. La producción de pigmentos difusibles, que son característicos de los aislados de *T. reesei*, se detectaron en la parte inferior de las placas. Se los encuentra principalmente en forma dispersa, la cual consta de micelios dispersos libremente dentro de las cuales se encuentran morfologías ramificadas, no ramificadas con pigmentos brillantes de color verdoso con olor aromáticos muy similares al coco. (Lecault, Patel, and Thibault 2007 ;Kubicek 2002). En el caso de *F. oxysporum* se caracterizó por producir colonias de crecimiento presentando esporas como son las microconidias, macroconidias y clamidosporas referenciadas por el autor (Arbeláez 2000) con nuestros resultados se logró caracterizar la morfología, donde se evidencio la presencia de macroconidios y microconidios para determinar la identificación de las especies de la cepa patógena presentando micelios aéreos y vegetativos de color blanquecinos, por otro lado, exhibió anillos concéntricos, conidióforos hialinos con ramificaciones piramidales y accesorios solitarios fijos. Las características del hongo patógeno son relativamente similares a la raza 4 pudiéndose tomar como modelo de investigación, al menos en nuestras condiciones.

Con lo expuesto, se determina las características morfológicas del hongo benéfico y del hongo patógeno de nuestra investigación. En base con la literatura revisada para comenzar podemos indicar que partimos de un rol importante y significativo que nos permite detallar de forma exhaustiva los tres mecanismos de control que emplea este agente de control biológico.

#### **4.9.1 Mecanismos de biocontrol de la *Trichoderma* spp.**

Es oportuno resaltar que, el secretoma soluble de *Trichoderma* spp. desempeña un papel clave en lo que respecta a la unión, penetración y colonización de las raíces de las plantas, además de modular la actividad micoparasitaria y antibiótica (Dutta et al. 2023).

Estas últimas actividades de control mencionadas pertenecen a los mecanismos de biocontrol directos empleados por la *Trichoderma*, en donde este hongo interactúa con el fitopatógeno a través de micoparasitismo, antibiosis y competencia; asimismo existe el mecanismo indirecto, al mejorar los sistemas de defensa de la planta para que esta pueda combatir por sí misma contra su patógeno (Guzmán-Guzmán et al. 2023). Esta combinación de mecanismos proporciona a este hongo un alto nivel de antagonismo contra microorganismos patógenos (Kubicek 2002).

## 4.9.2 Micoparasitismo

Este proceso inicia en la rizosfera de las plantas y se define como una simbiosis antagónica en la que están involucradas enzimas líticas como quitinasas, glucanasas y proteasas (Matas-Baca et al. 2023). Cabe indicar que, los hongos de la especie *Trichoderma* se caracterizan por poseer un gran número de genes que codifican acción parasitaria (Matas-Baca et al. 2023), de tal manera que demuestra su capacidad para antagonizar hongos patógenos de plantas u omisetos.

De lo indicado se desprende que, el micoparasitismo implica la capacidad de *Trichoderma* para atacar y alimentarse de otros hongos, incluyendo fitopatógenos. Proceso que se respalda por el secretoma soluble de *Trichoderma*, el cual facilita la adhesión, penetración y colonización de las raíces de las plantas. Además, este secretoma contribuye en la modulación del micoparasitismo (Dutta et al. 2023). De forma que, desempeña un papel crucial en la protección de las plantas contra patógenos. Este proceso se divide en cuatro fases distintas: Quimiotropismo, reconocimiento de la presa o del huésped, adhesión y enrollamiento, y muerte de la presa.

*El quimiotropismo*, es la primera fase y esta implica la respuesta de *Trichoderma* a señales química que lo guían hacia su presa o huésped. Esto indica que, *Trichoderma* percibe la presencia de hongos objetivo en su entorno mediante varios receptores acoplados a proteína G transmembrana, como lo es el caso de la GPCR. Mismas que cuando se unen a los ligandos del patógeno, producen una serie de señalizaciones al estimular proteínas G y quinasas activadas por mitógenos (MAPKs), que juegan un rol crucial en el micoparasitismo y biocontrol de fitopatógenos. (Dutta et al. 2023).

En la segunda fase, *reconocimiento de la presa o huésped*, *Trichoderma* secreta metabolitos que son detectados por ambos microorganismos, lo cual induce a la producción de proteasas y secreción de enzimas extracelulares (Yao et al. 2023) que generan una descomposición enzimática de los componentes de la pared celular del fitopatógeno o facilitan su invasión al interior de este. Es necesario aclarar que, la pared celular fitopatógena está compuesta en un 90% por polisacáridos tales como glucano, quitina, manano, galactomanano y quitosano, así como también de proteínas y glicoproteínas, haciendo que las enzimas hidrolíticas como quitinasas  $\beta$ -1,3-glucanasa y celulasa sintetizadas por *Trichoderma* spp., adquieran la capacidad de degradar directamente las paredes celulares de su presa (kubicek 2002; Singh et al. 2023).

Este proceso es guiado por la producción de oligoquitinas y lectinas (moléculas sensoras de *Trichoderma* spp), a los carbohidratos de la pared celular del patógeno (Matas-Baca et al. 2023). A su vez, se genera una serie señalizaciones previas a la conexión con su hospedero, que se desencadenan a partir de la expresión de genes de proteasas y transportadores de oligopéptidos (Matas-Baca et al. 2023).

En la tercera fase de *adhesión y enrollamiento* se da lugar cuando *Trichoderma* entra en contacto físico con su presa. Esto da lugar a que las hifas de *Trichoderma* se enrollen alrededor de las hifas o cuerpo de su huésped, de tal forma que facilita su adherencia al micelio del hongo huésped mediante la interacción entre las lectinas del fitopatógeno y los azúcares (carbohidratos) en la pared celular de *Trichoderma* (Dutta et al. 2023).

En esta fase, se forman los apresorios mediante la guía de las hidrofobinas (proteínas). Estos poseen altas concentraciones de solutos osmóticos como el glicerol, jugando así un rol importante al momento de ejercer presión mecánica y proceder con la invasión de la pared hifal (Dutta et al. 2023). Los apresorios están ubicados en los extremos de las hifas del patógeno, y contribuyen a que el antagonista penetre la pared celular del fitopatógeno.

Finalmente, tenemos la cuarta fase de *muerte de la presa* implica tanto la producción como secreción de enzimas líticas y metabolitos secundarios por parte de *Trichoderma*, permitiendo la degradación de la pared celular del fitopatógeno, aportando a que *Trichoderma* penetre y logre alimentarse de las hifas del huésped a través de la absorción de los nutrientes con la ayuda de los haustorios (hifas), compuestos tóxicos y las enzimas líticas previamente identificadas (Kubicek 2002; Matas-Baca et al. 2023), llevando a su lisis y muerte, en este caso a su inhibición.

A ello se suma que, en esta fase *Trichoderma* desactiva enzimas necesarias para que los hongos patógenos colonicen y penetren el tejido vegetal (Dutta et al. 2023).

Con esto se puede establecer que, el micoparasitismo de *Trichoderma* es un proceso complejo en el que se involucran enzimas líticas, compuestos tóxicos y señalización molecular, abarcando diferentes fases que comprenden desde la identificación y adhesión hasta la penetración y eventual muerte de la presa (patógeno). Siendo este proceso crucial para su eficacia como agente de biocontrol en la protección de las plantas contra fitopatógenos.

Los ensayos de placa de cultivo dual nos permitieron controlar durante 7 días en condiciones *in vitro* la capacidad antagonista días en condiciones *in vitro* la capacidad antagónica de *T. reesei* C2A para inhibir el crecimiento micelial de *F. oxysporum* F1. La evolución en el tiempo del porcentaje de inhibición en los ensayos de confrontación mostrados durante los primeros 3 días, confirmó la capacidad de *T. reesei* C2A para inhibir el crecimiento de *F. oxysporum* F1. Se observó que las inhibiciones fueron distintas durante 3 días, y que el resultado fue relativamente el mismo. Lo que demuestra el mecanismo antagonista y micoparasitario de la cepa de biocontrol que crece aceleradamente, efectuando la inhibición del fitopatógeno de la misma manera. Resultados similares fueron reportados por (Anuragi & Sharma 2016; Cherkupally et al. 2017 ; Galarza et al. 2015) quienes usando cuatro cepas diferentes (T29, T1, T2 y T3) de *T. reesei* demostraron que eran capaces de inhibir en un alto porcentaje el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, *F. oxysporum* f. sp. *civero* y *F. oxysporum* f. sp. *melongenae*. Se sabe que los aislados de *T. reesei* activan una gran cantidad de metabolitos secundarios y/o enzimas incluyendo las enzimas degradadoras de la pared celular de las plantas que degradan la pared celular de patógenos de suelo y plantas (Kubicek 2002; Seiboth et al. 2012).

### 4.9.3 Competencia

La competencia por recursos es un componente central de su capacidad para colonizar de forma rápida la rizosfera debido a que aprovecha los puntos calientes de nutrientes de tal forma que ejerce un control efectivo sobre patógenos a través de la eliminación por falta de alimento a otros competidores (Guzmán-Guzmán et al. 2023; Dutta et al. 2023). Esto beneficia directamente el crecimiento de las plantas porque se restringe el desarrollo de los fitopatógenos.

En nuestra investigación la escala adaptada de Ezziyyani (Ezziyyani et al. 2004) que se utilizó aplica índices que van desde 0-4 donde el grado de 3 es satisfactorio para el resultado de

la capacidad antagónica y de competencia. Esta fue determinada por las observaciones macroscópicas presentadas en el micoparasitismo debido a que se alteran las funciones biológicas del patógeno presentándose una total invasión y esporulación de *T. reesei* (C2A) sobre la colonia de *F. oxysporum* (F1).

Las especies de *Trichoderma* son consideradas competidores altamente agresivos debido a su capacidad para proliferarse extensamente en el suelo, compitiendo por nutrientes como C, N y Fe, espacio, agua y oxígeno; además por su capacidad de movilización y utilización de nutrientes del suelo de manera eficaz en comparación con otros hongos del suelo ; (Dutta, Deb, and Pandey 2022 ; Singh et al. 2023). Este último, se da gracias a la generación de diversos ácidos orgánicos que mejoran la solubilidad y la absorción de minerales (kubicek 2002).

El fortalecimiento de la capacidad competitiva de *Trichoderma* se denota al enfrentar y resistir una amplia gama de toxinas o compuestos antimicrobianos generados por otros microorganismos, gracias a la presencia de transportadores de casetes de unión a ATP (Dutta et al. 2023). En los resultados encontrados en la presente investigación se observó que *T. reesei* (C2A) actúa contra *F. oxysporum* (F1) evidenciando que durante 3 días demostró que solo después del tercer día de incubación fue cuando las colonias de hongos comenzaron a competir por el espacio y los nutrientes, y el micelio de la cepa de biocontrol creció y esporuló sobre el patógeno, *T. reesei* (C2A) cubrió completamente la placa de Petri incluyendo 1/4 de *F. oxysporum* (F1). El micelio de *Trichoderma* cambió de color de verdoso a grisáceo e invadió del 50 al 100% de la colonia de *Fusarium*. *T. reesei* (C2A) experimentó un crecimiento micelial exponencial de 3,41 cm en el día 1 a 9 cm, posicionándola como una herramienta prometedora en la protección de los cultivos agrícolas. En definitiva, *Trichoderma* utiliza diversos mecanismos de acción que comprenden desde el micoparasitismo, la competencia por nutrientes y la antibiosis con la finalidad de controlar los fitopatógenos.

#### 4.9.4 Antibiosis

La antibiosis es uno de los mecanismos principales que emplea *Trichoderma* spp dentro del control biológico de enfermedades en plantas (Kubiak et al. 2023). Es imperante subrayar que, la agresividad competitiva de *Trichoderma* también se manifiesta a nivel químico. Esto es producto de la capacidad que posee este género de hongo en la secreción de una amplia variedad de metabolitos secundarios como antibióticos o enzimas líticas, que tienen efectos antagonistas sobre otros microorganismos (Dutta et al. 2023). Así mismo, en este proceso se da paso a la liberación de sideróforos y quelantes de hierro, que se unen al hierro presente en el suelo, lo que genera una inaccesibilidad del micronutriente para las bacterias rizosféricas (Dutta et al. 2023 ; Singh et al. 2023) de modo que impide su crecimiento.

Esta actividad de biocontrol se define como una interacción biológica donde un microorganismo genera metabolitos secundarios y enzimas difusibles de bajo peso molecular con propiedades antimicrobianas o antibióticos antifúngicos que repercuten dentro del crecimiento o vida de otro organismo, en este caso del patógeno (Adhikari 2023).

En este contexto, *Trichoderma* posee la capacidad de antagonizar a sus presas o fitopatógenos a través de la producción de metabolitos secundarios como la celulasa, pectinasa, xilanasas, lipasa, glucanasa, proteasa y amilasa; metabolitos volátiles como lo son los péptidos no ribosomales, sideróforos, policétidos, terpenoides o 6-npentil-2H-pirano-2-ona (6-PAP), etc.; así mismo, antibióticos como trichodermina, la suzukacilina y la alameticona (Chaube & Pandey, 2022). Este último, presentan mayor presencia en *Trichoderma harzianum*, estos antibióticos producidos por ese tipo de agente de control biológico el cual repercute en las secuencias morfológicas o fisiológicas de los microorganismos afectados, según lo destaca el estudio de (Chaube & Pandey 2022). Cabe añadir que, algunas especies de *Trichoderma* spp, producen aminoácidos como el ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico ( $C_4H_9NO_2$ ), como antibiótico polipeptídico acetilado (Matas-Baca et al. 2023). Así también la Gliotoxina, Viridina y Gliovirina son antibióticos producidos por este género.

Profundizando en el tema, los metabolitos secundarios producidos por *Trichoderma* actúan de diversas formas, desde inhibir la síntesis de proteínas hasta afectar la síntesis de la pared celular de los patógenos fúngicos. A esto se agrega que, los metabolitos son químicamente divergentes, y con ello presentan un amplio espectro de actividad microbiana en la vecindad de su nicho, inhibiendo el crecimiento y la germinación de esporas de fitopatógenos dado que actúan como inhibidores metabólicos de las vías de traducción, bloqueando la síntesis de proteínas y promoviendo el micoparasitismo (Dutta et al. 2023; Yao et al. 2023). Esto resalta la importancia de la antibiosis en la estrategia de control biológico empleado por este hongo.

Es esencial establecer que, la *Trichoderma* produce enzimas antifúngicas como quitinasas,  $\beta$ -glucanasas y proteasas, que forman parte crucial en el micoparasitismo (Lyubenova et al. 2023) . De acuerdo con lo indicado por (Guzmán-Guzmán et al. 2023) se estipula que la combinación de las enzimas y metabolitos aportan de manera significantes con la capacidad general que poseen las especies de *Trichoderma* para competir y controlar la proliferación de los patógenos que se encuentran inmersos en su entorno.

Se conoce que los aislados de *Trichoderma reesei* activan una gran batería de metabolitos secundarios y / o enzimas, incluidas las enzimas degradadoras de la pared celular de las plantas que degradan la pared celular de los patógenos de plantas del suelo (Kubicek et al. 2011; Seiboth et al. 2012). Aunque los métodos actuales para controlar la marchitez por *Fusarium* se basan en la aplicación de fungicidas sintéticos como mancozeb, bromuro de metilo y amonio cuaternario, el patógeno no siempre se elimina y puede continuar esporulando en tejidos necróticos debido a su capacidad saprofita (Nel et al. 2007; Dita, Echegoyén, and Pérez 2017; Martínez et al. 2016). El uso de estos fungicidas no es una práctica económica y ambientalmente sostenible porque su uso excesivo ha llevado a graves problemas de contaminación ambiental, generando resistencia a patógenos y dejando residuos tóxicos en las frutas (Wu et al. 2009). Por lo tanto, actualmente se proponen alternativas más respetuosas con el medio ambiente para controlar el desarrollo de hongos fitopatógenos para reducir los efectos potencialmente dañinos de la aplicación continua de pesticidas y fertilizantes sintéticos en tierras agrícolas (Minh Luan 2018; L. Xu and Geelen 2018).

Los resultados de la aplicación sinérgica de dosis bajas de fungicidas sintéticos combinados con agentes de control biológico como los hongos del género *Trichoderma* (Kannan & Sureendar 2009b; Tirado-Gallego et al 2016b) podría ser considerado para utilizarse en la promoción del crecimiento eficiente del hongo benéfico , así como para el control biológico de patógenos.

Aunque los métodos actuales para controlar la marchitez por *Fusarium* se basan en la aplicación de fungicidas sintéticos como mancozeb, bromuro de metilo y amonio cuaternario, el patógeno no siempre se elimina y puede continuar esporulando en tejidos necróticos debido a su capacidad saprofita (Nel et al. 2007; Dita, Echegoyén and Pérez 2017; Martínez et al. 2016). El uso de estos fungicidas no es una práctica económica y ambientalmente sostenible porque su uso excesivo ha llevado a graves problemas de contaminación ambiental, generando resistencia a patógenos y dejando residuos tóxicos en las frutas (Wu et al. 2009). Por lo tanto, actualmente se proponen alternativas más respetuosas con el medio ambiente para controlar el desarrollo de hongos fitopatógenos para reducir los efectos potencialmente dañinos de la aplicación continua de pesticidas y fertilizantes sintéticos en tierras agrícolas (Minh Luan 2018; L. Xu and Geelen 2018).

Estudios recientes en condiciones *in vitro* han demostrado que cuando se agrega mancozeb al medio de cultivo en concentraciones inferiores a 5 mg/ml, el crecimiento micelial de *Trichoderma* no se inhibe significativamente (Bhale and Rajkonda 2015; Wedajo 2015). Además (Ratnakumari et al. 2011), probó la tolerancia de 26 aislados de *Trichoderma* contra 4 pesticidas y evaluó su capacidad antagonista contra el patógeno del tizón de la vaina del arroz *Rhizoctonia solani*. Los autores informaron que el pesticida piretroide, Cihalotrina, mejoró significativamente el crecimiento de todos los aislados de *Trichoderma* y de entre ellas las cepas *T. reesei* fueron las más efectivas para inhibir el crecimiento y la formación esclerotial de *R. solani*.

Los ensayos sinérgicos realizados en este estudio utilizando 0,1 mg/mL de Mancozeb y Clorotalonil, y 0.001 de Propiconazol combinado con la cepa fúngica *T. reesei* C2A, demostraron que la capacidad micoparasitaria de la cepa de biocontrol se mejoró cuando se aplicaron concentraciones más bajas del fungicida al medio de cultivo. Observando los resultados del enfrentamiento de los hongos ante los fungicidas, tanto benéficos como patógenos, pudimos observar la tolerancia que tiene el hongo benéfico a mancozeb que es un fungicida de contacto (Fig 4.12 A), lo cual fue menor para clorotalonil (Fig 4.13 A), pero que fue completamente detrimental para *Trichoderma* en presencia de propiconazol aunque su concentración es menor, por ser sistémico (Fig 4.14 A). *T. reesei* C2A creció más rápido que *F. oxysporum* F1 a partir del segundo día de incubación y continuó creciendo más rápido hasta el tercer día. A partir del día 3, *T. reesei* C2A presentó un sobrecrecimiento hacia el patógeno inhibiendo alrededor de 53% (máximo) al 23% (mínimo) del crecimiento micelial de *F. oxysporum* F1 en comparación con las placas de control.

los resultados obtenidos sugieren que el agente de biocontrol *T. reesei* C2A podría usarse en combinación con el fungicida sintético Mancozeb ya que es un fungicida de contacto y con potencial uso de la concentración empleada con un efecto sinérgico que inhibe en un mayor porcentaje el crecimiento de los fitopatógenos. Algo muy interesante sería identificar si una mezcla de los fungicidas se puede usar para controlar los crecimientos de las primeras 24 horas y luego de 36 horas. Para usar Clorotalonil o Propiconazol estos deben ser manejados con otras concentraciones o en combinación de Mancozeb en estudios futuros ya que otros estudios demuestran que la combinación de fungicidas contacto con los sistémicos pueden dar mejores resultados ya que los sistémicos resultan ser altamente tóxicos para el hongo *Trichoderma*.

#### **4.9.5 Metabolitos Secundarios y enzimas producidas por *Trichoderma* spp.**

*Trichoderma* se caracteriza por producir una gran variedad de metabolitos secundarios (MSs) con potentes propiedades antimicrobianas, como Tricomocina, Clorotricomicina, Gelatinomicina y Péptidos antibacterianos (Cintia Rodríguez Maruyama et al. 2020). Cabe indicar que, esta actividad microbiana producida por el hongo del género *Trichoderma* se debe a la secreción de diversos (MSs) que se da lugar en la antibiosis (Dutta et al. 2023; Guzmán-Guzmán et al. 2023). Además, estos metabolitos no solo tienen la capacidad de combatir o limitar el crecimiento de los fitopatógenos, sino que también promueven y estimulan el crecimiento vegetal, e inducen respuestas de defensa y el fortalecimiento de las mismas a partir de algunos metabolitos secundarios volátiles liberados por *Trichoderma* que actúan como elicitores (Yao et al. 2023).

A su vez se añade que, varias especies de *Trichoderma* presentan actividades antifúngicas por lo cual se involucran los grupos de (MSs) como terpenos, pironas, gliotoxina, gliovirina y peptaiboles (Khan et al. 2020b). Cabe subrayar que, estos metabolitos actúan como antibióticos y sustancias tóxicas que inhiben el crecimiento de los fitopatógenos mediante la generación de especies reactivas de oxígeno, la desactivación de proteínas y enzimas esenciales, y la alteración de la integridad celular, lo cual con lleva finalmente a la muerte o inhibición del microorganismo (Kubiak et al. 2023).

Es por ello la importancia de resaltar que el estudio de la *Trichoderma* y sus metabolitos secundarios son altamente relevantes ya que se destaca a este hongo como una fuente excepcional de (MSs) (Khan et al. 2019), lo que contribuye a la promoción de la sostenibilidad agrícola y a la lucha contra patógenos microbianos en diversos entornos, adicionalmente es ampliamente reconocido por su capacidad única para producir una variada gama de metabolitos secundarios (MSs) con diversas funciones y aplicaciones. Estos metabolitos, que incluyen tricomicina, peptaiboles, gliotoxina, viridina, pirones, péptidos antibacterianos,  $\beta$ -1, 3-glucanasa, quitinasa, polipéptidos, policetonas, butirrolactonas, ácido sesquiterpeno hepta carboxílico, sideróforos, terpenos y algunos metabolitos volátiles como terpenoides, 6-pentil-2H-piran-2-ona, etc. (Guzmán-Guzmán et al. 2023; Yao et al. 2023; Shahriar et al. 2022), dentro de las que se destacan las propiedades antimicrobianas y antifúngicas. A ello es de agregar que, estos metabolitos, junto con enzimas hidrolíticas, mejoran la actividad antagonista de *Trichoderma* contra microorganismos patógenos otorgándole su alta capacidad antifúngica (Khan et al. 2020b; Sachdev et al. 2020).

El género *Trichoderma* es bien conocido como uno de los agentes de control biológico más valiosos contra varios fitopatógenos utilizados en diferentes especies vegetales. El manejo de hongos fitopatógenos mediante el género *Trichoderma* a través de varios mecanismos antifúngicos asociados es una estrategia sostenible y respetuosa con el medio ambiente que reduce la presencia nociva de patógenos en el suelo, las raíces y las partes aéreas de las plantas. Sin embargo, el uso de agentes de biocontrol combinados con plaguicidas químicos ha demostrado un mayor potencial para reducir el crecimiento de patógenos y beneficiar el desarrollo de las plantas. Una mejor caracterización de los metabolitos activos secretados por *Trichoderma* y sus mecanismos de acción para mejorar su uso como agente de biocontrol.

Nuestra búsqueda bibliográfica evidencia pruebas actuales sobre (MSs) secretadas por *Trichoderma* spp. o enzimas la cual dio como resultado la anotación de 590 compuestos únicos enumerados en la tabla suplementaria S1. Incluye muchas clases estructurales como pironas, butenólidos esteroides, peptaiboles y terpenoides (Röhrich et al. 2014). 54 % de todos los (MSs) o enzimas recuperados en nuestra búsqueda tienen al menos un efecto biológico asociado, descrito en la Tabla suplementaria S1. Aunque esta lista de actividades biológicas no debe considerarse exhaustiva, nos permite apreciar increíblemente la amplia gama de actividades biológicas de los (MSs) de *Trichoderma* entre las cuales se encuentra diferentes funciones biológicas como la acción antifúngica, antibacteriana, antitumorales, captadoras de radicales DPPH, efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de las plantas, entre otros (Tabla S1).

La lista de (MSs) que se muestra en la Tabla suplementaria S1 enfatizan con trabajos anteriores que en calidad y el número de compuestos volátiles producidos son variables para cada cepa de *Trichoderma*. Como ejemplo de la diversidad de (MSs) producidos por diferentes especies de *Trichoderma* spp. Un total de 115 (MSs) fueron reportados en la (Tabla suplementaria S1). SMs o enzimas identificadas para *T. reesei*, *T. harzianum* y *T. spirale* se indican en la Tabla 4.11, 4.12 y 4.13, respectivamente, que podrían utilizarse para controlar *Fusarium oxysporum*,

debido a su actividad antifúngica. Este resultado no debe entenderse como que sólo *T. harzianum* secreta todos estos compuestos. Los genes que codifican proteínas responsables de sintetizar estos (MSs) no se expresan de forma constitutiva, sino debido a interacciones con el patógeno en la rizosfera de la planta (Damodaran et al. 2020). Por ejemplo, el (MSs) trichosetin, presumiblemente secretada por *T. harzianum*, sólo se ha identificado en cultivos duales de *T. harzianum* y callos de *Catharathus roseus* pero no en cultivos individuales (Vinale et al. 2016). Sin embargo la gran diversidad de (MSs) aislados y caracterizados de *T. harzianum* indica el gran valor potencial de este hongo como agente de biocontrol contra hongos fitopatógenos.

Los ensayos *in vitro* e *in vivo* han demostrado que los aislados de *T. harzianum* tienen mayor actividad inhibitoria frente a *F. oxysporum* que otras especies de *Trichoderma* (Álvarez-García et al. 2020). El Potencial agente biocontrol de *T. harzianum* contra *Fusarium Oxysporum* se ha demostrado *in vitro* e *in vivo* contra *F. oxysporum* en álamo (Zhu et al. 2020) jengibre ( Das et al. 2019), pepino (Saravanakumar et al. 2016),(Redda et al. 2018), lechuga (Alamri et al. 2019), ñame blanco (Nwankiti AO 2018), chile (Sinha et al. 2018), tomate y pepino (S. Chen et al. 2017). No obstante, *T. reesei* es una de las principales especies fúngicas utilizadas en biotecnología de forma segura durante décadas en la producción de enzimas. En contraste *T. harzianum*, se considera que *T. reesei* tiene una producción limitada de micotoxinas (Frisvad et al. 2018).

A pesar de que la literatura no enumera específicamente muchos (MSs) de *T. spirale* considerando en este caso al ácido trichodermico A y B asociados con la actividad antifúngica, vale la pena nombrar las enzimas asociadas a *Trichoderma spirale* como son quitinasa, endoquitinasa y  $\beta$ -1,3-glucanasa, esta lista es corta pero muestra el uso potencial de *T. spirale* en el control de hongos patógenos. Los numerosos estudios relacionados con la presencia de metabolitos secundarios nos ofrecen alternativas teóricas para poder tener un mayor conocimiento del uso de *Trichoderma* spp. como agentes de biocontrol, los (MSs) caracterizados como moléculas activas y las enzimas encontradas en esta revisión bibliográfica presentan características antifúngicas que actúan directamente sobre los hongos fitopatógenos.

#### **4.9.6 Resultados adicionales sobre el uso de *Trichoderma* spp. y plaguicidas sintéticos**

El bajo costo de los insumos y la mayor productividad de los cultivos de la aplicación de agentes de control biológico (o biopesticidas) son los beneficios económicos observados en comparación con los sintéticos (Lombardi et al. 2020). Así, el uso de *Trichoderma* se considera un enfoque sostenible no sólo desde el punto de vista ecológico, sino también perspectiva económica.

Sin embargo, el uso de productos de origen microbiano como biocontroladores o bioestimulantes presenta algunos inconvenientes en comparación con sus homólogos químicos. Los productos microbianos requieren condiciones especiales para su conservación para mantener la viabilidad y la eficacia (Kumari et al. 2020). Además, tienen limitaciones debidas a la dependencia del cultivo, los regímenes geográficos los regímenes geográficos y meteorológicos y los patógenos (Abdelrahman et al. 2016; Lombardi et al. 2020). Un enfoque interesante que ha surgido para hacer frente con las ventajas y limitaciones de los diferentes métodos para controlar la infestación de cultivos por *F. oxysporum* es la aplicación simultánea de *Trichoderma* como control biológico con plaguicidas químicos y otros agentes de control biológico.

Por ejemplo, un tratamiento combinado con *T. polysporum* LCB50 y riego con compost líquido aplicado dio como resultado en un fuerte efecto sinérgico en el control de la marchitez del melón y un aumento del 100% en la productividad de la fruta comercial (Gava et al. 2016).

Resultados recientes de nuestro grupo investigativo han demostrado un efecto sinérgico *T. reesei* y Mancozeb, inhibiendo el crecimiento micelial de *F. oxysporum*. (González et al. 2023). También se obtuvo una actividad sinérgica *T. reesei* combinada con clorotalonil o propiconazol (datos en espera de fecha de publicación). Sin embargo, la base molecular de la actividad biológica de estos agentes que resulta en una mayor capacidad para inhibir la infección por *F. oxysporum* hasta la actualidad es desconocida.

Clorotalonil (tetracloroisofthalonitrilo) y Mancozeb (manganeso etileno bis (ditiocarbamato) (polimérico) con sal de zinc) son inhibidores enzimáticos multi-sitio que actúan como fungicidas protectores de amplio espectro (Yang et al. 2011). Ambos son fungicidas preventivos no sistémicos que forman una barrera protectora barrera protectora en la superficie de la planta contra la de esporas e inhiben el desarrollo de patógenos. ( Yang et al. 2008.; Gisi et al.2008b). Propiconazol (((2RS,4RS;2RS,4SR)-1-[2-(2,4-dichlorophenyl)-4-propil-1,3-dioxolan-2-ylmetil]-1H-1,2,4-triazol)) pertenece a un grupo de fungicidas sistémicos que desestabilizan la integridad de la membrana celular y afectan al ergosterol. la integridad de la membrana celular y afecta a la biosíntesis del ergosterol a través de la inhibición de la C14-desmetilación (Yang et al. 2011). Los fungicidas sistémicos se adsorben en las hojas y se translocan a través del xilema, protegiendo así la planta y controlando los patógenos circulantes (Yang et al. 2011).

La estrategia de coinoculación es posible siempre que el hongo utilizado como biopesticida tolere la concentración mínima del fungicida químico necesario. Este último no interfiere en su desarrollo sino que contribuye a mayor control sobre la especie fitopatogena. En este escenario, tal y como proponen (Peláez-Álvarez et al. 2016), la presencia del plaguicida químico retrasa el crecimiento del fitopatogeno, proporcionando una ventaja en la competencia por el espacio y los nutrientes a favor del biopesticida. La detección química del hongo competidor induciría la secreción de un arsenal de (MSs) que pueden actuar en ambos sentidos,

facilitando la actividad del fungicida químico y estimulando el sistema de defensa de la planta (Saravanakumar et al. 2016; Tian et al. 2020). Por lo tanto, el movimiento de los fungicidas químicos tiene lugar desde las partes superiores de la planta y, en el caso de los de actividad sistémica, se disemina a las partes inferiores.

El hongo *F. oxysporum* penetra a través de las raíces y se disemina por toda la planta utilizando el sistema vascular. A diferencia de los fungicidas químicos, los hongos *Trichoderma* forman parte de la rizosfera y generalmente crecen en las superficies de las raíces de las plantas y, por tanto, controlan sobre todo las enfermedades de las raíces (Macías-Rodríguez et al. 2020). En consecuencia, el uso de *Trichoderma* como agente de control biológico proporcionará una primera barrera eficaz en el lugar de la infección que se complementará con la actividad de los plaguicidas químicos.

Investigaciones previas sobre *Trichoderma* spp. utilizados como agentes de biocontrol han demostrado que las enzimas degradadoras de la pared celular secretadas por hongos, es decir, quitinasa, celulasa, proteasa y  $\beta$ -(1-3) glucanasa y peptaiboles se producen simultáneamente durante el biocontrol e interactúan sinérgicamente como agentes antifúngicos (Woo et al. 2002). El mecanismo propuesto para tal efecto se basa en que las enzimas degradan la pared celular de los hongos patógenos del huésped. Esta actividad inhibe directamente el crecimiento del patógeno, al mismo tiempo, facilita el acceso de los peptaiboles a la membrana celular. Los peptaiboles son pequeños péptidos de 15-20 residuos caracterizados por aminoácidos no estándar en sus secuencias, con especial propensión al ácido aminoisobutírico. La actividad antimicrobiana de los peptaiboles está relacionada con su capacidad para formar poros en las membranas lipídicas (Whitmore et al. 2004).

El mismo efecto sinérgico se ha descrito para la actividad de las enzimas degradadoras de la pared celular y otros (MSs) dirigidos en las moléculas específicas diana en la inhibición de *F. oxysporum* por *T. asperellum* (Saravanakumar et al. 2016). los (MSs) identificados como presentes en extractos con potente actividad antifúngica contra *F. oxysporum*, o ensayados a partir de preparaciones purificadas y con actividad inhibitoria demostrada contra este fitopatógeno. Sin embargo, se han notificado diferencias importantes en la actividad de las enzimas que degradan la pared celular de *T. asperellum* y *T. harzianum* (Saravanakumar et al. 2016). Por lo tanto, este mecanismo podría no ser eficaz para todas las especies de *Trichoderma*.

Una actividad sinérgica similar podría explicar el resultado observado al coinocular especies de *Trichoderma* con capacidad de biocontrol contra *F. oxysporum* y mancozeb, clorotalonil y propiconazol (Gonzalez et al. 2020). Es razonable esperar un efecto similar al facilitar la penetración de estos fungicidas químicos. Los efectos sistémicos resultantes de la interacción de *Trichoderma* con la planta también contribuirían al efecto sinérgico observado cuando se utiliza con pesticidas químicos.

Varias investigaciones detallan que el oxígeno reactivo ha aumentado significativamente en plantas tratadas con *T. soybean*, *T. longibrachiatum* y *T. harzianum*, mejorando así la resistencia

de las plantas al estrés oxidativo (Abdelrahman et al. 2016; J. Zhang et al. 2017; S. Chen et al. 2017). La exposición de las plantas a pesticidas ha demostrado que la mayoría de estos productos químicos conducen al desarrollo de estrés oxidativo (Dallagnol et al. 2021). Además, se ha descubierto que la colonización de las raíces por *Trichoderma* está relacionada con la defensa, incluidas las  $\beta$ -peroxidasas y la hidróxido liasa de la vía de la lipoxigenasa de la planta (Kumari et al. 2020). Además, se ha demostrado que *T. harzianum* alivia el estrés oxidativo al minimizar la acumulación de especies reactivas del oxígeno durante la infección por *F. oxysporum* (Chen et al. 2017). Así pues, la activación de una respuesta sistémica al estrés oxidativo en las plantas podría ser otro nivel de acción cooperativa entre agentes de control químico y biológico para controlar el ataque de este hongo fitopatógeno.

Los efectos nocivos de *F. oxysporum* en las plantas causan importantes pérdidas económicas en la agricultura a nivel doméstico e industrial. Nuestra revisión bibliográfica presenta información que nos permite empezar por el mecanismo antifúngico de *Trichoderma*, enumerando los (MSs) y enzimas implicadas en estos mecanismos y, por último sinergia de 3 pesticidas sintéticos para un mejor control de *F. oxysporum*.

Nuestros hallazgos sugieren que es necesario desarrollar métodos más eficaces y ecológicos que los actuales para el control de *F. oxysporum*. Tanto para los agentes de control químico como para los agentes de control biológicos, Ambos controles han desempeñado individualmente un papel importante en la protección de los cultivos durante milenios.

Además, ambos tienen ventajas y desventajas en su uso. Por ello, los enfoques recientes han propuesto el uso simultáneo de plaguicidas químicos-biológicos porque han obtenido resultados prometedores que evidencian una actividad sinérgica para el control de la infestación por *F. oxysporum* en experimentos *in vitro* e *in vivo*. Una mejor comprensión de los modos de acción y efectos cooperativos de estos dos tipos de agentes fungicidas debería permitir hacer un mejor uso de ellos en los programas de coinoculación.

Aunque estos resultados son un aporte considerable, se necesitan estudios futuros en condiciones de invernadero y de campo para corroborar la efectividad especialmente de la cepa benéfica en formulaciones líquidas y/o sólidas en combinación con otros controladores biológicos y moléculas químicas que actúen en sinergia.

## Conclusiones y Recomendaciones

El efecto antagonista y micoparasitario de *T. reesei* C2A contra *F. oxysporum* F1 se observó después de 3 días de incubación, ya que las colonias de hongos comenzaron a competir por el espacio y los nutrientes, los micelios de la cepa de biocontrol crecieron y esporularon sobre el patógeno, *T. reesei* C2A cubrió completamente la caja de Petri que incluye  $\frac{1}{4}$  de *F. oxysporum* F1. El micelio de *Trichoderma* cambió de color de verdoso a grisáceo e invadió del 50 al 100% de la colonia de *Fusarium*, la cual aumentó con el tiempo la inhibición, del 59% al 62%.

Los ensayos sinérgicos demostraron que cuando el medio de cultivo se prepara con bajas concentraciones de mancozeb (0.1 mg / mL), clorotalonil (0.1 mg / mL) y propiconazol (0.001 mg / mL) combinado con discos de la cepa de control biológico *T. reesei* C2A, la capacidad micoparasitaria de la cepa de control biológico inhibió alrededor de 53% (máximo) al 23 % (mínimo) al patógeno *Fusarium oxysporum*.

La evaluación del estado del arte demuestra evidencia actualizada sobre los metabolitos secundarios activos y el efecto de los diferentes productos agroquímicos ampliamente utilizados de *Trichoderma* spp. utilizado como biocontrol contra *Fusarium oxysporum*, se analizó información donde se pudo identificar más de 590 metabolitos secundarios de los cuales se seleccionó un total de 155 estudios. El 54% de ellos tiene al menos una función biológica. Los resultados destacan el potencial de *T. harzianum*, *T. spirale* y *T. reesei* como agentes de control biológico para controlar *Fusarium oxysporum*.

Los resultados sugieren que *T. reesei* C2A exhibió una fuerte actividad antagonista contra *F. oxysporum* F1, inhibiendo el crecimiento micelial y previniendo la esporulación. Por lo tanto, *T. reesei* C2A podría usarse como un posible agente de control biológico para prevenir el marchitamiento por *Fusarium* en las plantaciones de banano.

Los efectos perjudiciales de *F. oxysporum* en los cultivos causan importantes pérdidas económicas a nivel doméstico, industria y en la agricultura. Es importante desarrollar métodos de control de *F. oxysporum* más eficaces y ecológicos en vista de que es un campo de investigación activo para la prevención.

Las pruebas experimentales *in vitro*, evidencian resultados favorables con las diferentes cepas estudiadas *T. harzianum*, *T. reesei*, *Trichoderma* spp., y *T. spirale*, se recomienda continuar con la realización de experimentos *in situ*, en vista de que los ensayos experimentales no van a generar impactos ambientales severos, siendo esta una posible alternativa para el control de la marchitez por *Fusarium*.

La importancia de un trabajo de aspecto investigativo es la validación científica, se propone corroborar los resultados obtenidos en este estudio con nuevos ensayos experimentales para comprender la actividad antifúngica de las diferentes especies que han sido estudiadas, así como los mecanismos de biocontrol para poder entender la cooperación interdisciplinaria de los fungicidas y el agente de control biológico, donde se vean involucrados los metabolitos secundarios fúngicos y sus posibles sinergias.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Monaim, Montaser F, Mohsen A Abdel-Gaid, Sahar A Zayan, and Dalia M T Nassef. 2014. "Enhancement of Growth Parameters and Yield Components in Eggplant Using Antagonism of Trichoderma Spp. Against Fusarium Wilt Disease." *International Journal of Phytopathology*; Vol 3, No 1 (2014): Int. J. Phytopathol. <https://doi.org/10.33687/phytopath.003.01.0510>.
- Abdelrahman, Mostafa, Fatma Abdel-Motaal, Magdi El-Sayed, Sudisha Jogaiah, Masayoshi Shigyo, Shin ichi Ito, and Lam Son Phan Tran. 2016. "Dissection of Trichoderma Longibrachiatum-Induced Defense in Onion (*Allium Cepa* L.) against *Fusarium Oxysporum* f. Sp. Cepa by Target Metabolite Profiling." *Plant Science* 246 (May): 128–38. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.02.008>.
- Adhikari. 2023. "The Journal of Agriculture and Environment Government of Nepal Government of Nepal Ministry of Agriculture and Livestock Development Ministry of Agriculture and Livestock Development "agro-Biodiversity for Life and Environment Agro-Biodiversity for Life and Environment "." *The Journal of Agriculture and Environment*. Vol. 24. [www.moald.gov.np](http://www.moald.gov.np).
- Agrocalidad, Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la calidad del agro, Estrategias Nacional para las Prevención, Detección y control de plaga Foc R4T. (2021) Quito Agrocalidad.
- Alamri, Saad A M, Mohamed Hashem, Yasser S Moustafa, Nivien A Nafady, and Kamal A M Abo-elyousr. 2018. "Biological Control of Root Rot in Lettuce Caused by *Exserohilum Rostratum* and *Fusarium Oxysporum* via Induction of the Defense Mechanism." *Biological Control* 7: 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.09.014>.
- Alamri, Saad A.M., Mohamed Hashem, Yasser S. Mostafa, Nivien A. Nafady, and Kamal A.M. Abo-Elyousr. 2019. "Biological Control of Root Rot in Lettuce Caused by *Exserohilum Rostratum* and *Fusarium Oxysporum* via Induction of the Defense Mechanism." *Biological Control* 128 (January): 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.09.014>.
- Alburqueque Andrade, Diana. 2018. "Eficacia de Fungicidas Químicos Para El Control in Vitro de Diferentes Fitopatógenos En Condiciones Controladas." *Arnaldoa* 25 (2). <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.252.25209>.
- Álvarez-García, Samuel, Sara Mayo-Prieto, Santiago Gutiérrez, and Pedro Antonio Casquero. 2020. "Self-Inhibitory Activity of Trichoderma Soluble Metabolites and Their Antifungal Effects on *Fusarium Oxysporum*." *Journal of Fungi* 6 (3): 1–11. <https://doi.org/10.3390/jof6030176>.
- Aniel, W, and P Jenies. 2018. "El *Trichoderma* Spp. Dentro de Estudios Hacia El *Fusarium Oxysporum* a Nivel de La Producción Bananera. Makati - Filipinas." In *Centro Internacional de Estudios Tropicales Publicaciones*.

- Anith, K N, and T P Manomohandas. 2001. "Combined Application of *Trichoderma Harzianum* and *Alcaligenes* Sp. Strain AMB 8 for Controlling Nursery Rot Disease of Black Pepper." *Indian Phytopath.* Vol. 54.
- Anuragi M, and Sharma T. 2016. "EFFECT OF DIFFERENT GROWTH PARAMETERS ON *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. CICERI (WILT CAUSING PATHOGEN OF CHICKPEA)."   
<https://www.researchgate.net/publication/316273330>.
- Ao, Nwankiti, and Gwa Vi. 2018. "Evaluation of Antagonistic Effect of *Trichoderma Harzianum* against *Fusarium Oxysporum* Causal Agent of White Yam ( *Dioscorea rotundata* Poir ) Evaluation of Antagonistic Effect of *Trichoderma Harzianum* against *Fusarium Oxysporum* Causal Agent of White Yam ( D," no. May. <https://doi.org/10.19080/TTSR.2018.01.555554>.
- Aquino, César Fernandes, Luiz Carlos Chamhum Salomão, Paulo Roberto Cecon, Dalmo Lopes de Siqueira, and Sônia Machado Rocha Ribeiro. 2017. "PHYSICAL, CHEMICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF BANANA CULTIVARS DEPENDING ON MATURATION STAGES." *Revista Caatinga* 30 (1): 87–96. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n110rc>.
- Arbeláez, Germán, and Torres Profesor Titular. n.d. "ALGUNOS ASPECTOS DE LOS HONGOS DEL GENERO *Fusarium* Y DE LA ESPECIE *Fusarium Oxysporum* Some Aspects of *Fusarium* Genus and the *Fusarium Oxysporum* Species."
- Arbito, M. 2017. "EVALUACIÓN in Vitro DE LA CAPACIDAD ANTAGONISTA DE *Trichoderma* spp. FRENTE A *Fusarium* spp."
- Arias, P., C. Dankers, Liu. P., and P. Pilkauskas. 2003. *The World Banana Economy 1985 - 2002*. Edited by P. Arias, C. Dankers, P Liu, and P. Pilkauskas. Rome, Italy: FAO.
- Asghar, U, M F Malik, and A Javed. 2016. "Pesticide Exposure and Human Health: A Review." *Journal of Ecosystem & Ecography* 01 (s5): 3–7. <https://doi.org/10.4172/2157-7625.s5-005>.
- Ashwini, N., and S. Srividya. 2014. "Potentiality of *Bacillus Subtilis* as Biocontrol Agent for Management of Anthracnose Disease of Chilli Caused by *Colletotrichum Gloeosporioides* OGC1." *3 Biotech* 4 (2): 127–36. <https://doi.org/10.1007/s13205-013-0134-4>.
- Asten, Piet Van. 2012. "2 Commodities 2.1 Banana."
- Baiyee, Burhanah, Chaninun Pornsuriya, Shin-ichi Ito, and Anurag Sunpapao. 2019. "Trichoderma Spirale T76-1 Displays Biocontrol Activity against Leaf Spot on Lettuce (*Lactuca Sativa* L.) Caused by *Corynespora Cassiicola* or *Curvularia Aeria*." *Biological Control* 129: 195–200. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.10.018>.

- Baldwin, B C, and W G Rathmell. 1988. "EVOLUTION OF CONCEPTS FOR CHEMICAL CONTROL OF PLANT DISEASE." *Ann. Rev. Phytopathol.* Vol. 26.
- Barreiro, Andrés. 2017. "Manejo Agrícola Del Banano." Bogotá - Colombia. Bhale, U.N., and J.N. Rajkonda. 2015. "Compatibility of Chemical Pesticides and Aggravation of *Trichoderma* Spp against Pathogens." *Bioscience Methods*. <https://doi.org/10.5376/bm.2015.06.0003>.
- Bubici, Giovanni, Manoj Kaushal, Maria Isabella Prigigallo, Carmen Gómez Lama Cabanás, and Jesús Mercado-Blanco. 2019. "Biological Control Agents against Fusarium Wilt of Banana." *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00616>.
- Buendía, C. 2017. "Compendio de Revisión Histórico de Casos Del Mal de Panamá (*Fusarium Oxysporum*) y Las Implicaciones Frente al *Trichoderma* Spp." In *Centro de Investigaciones Guatemala*.
- Caballero, A. 2018. "Biocontrol de Marchitez Por *Fusarium Oxysporum* En Banano: Aislamientos Endofíticos de *Trichoderma* Spp., Para El Combate Biológico de La Enfermedad Mal Del Panamá (Foc)." In *Centro de Estudio de Agricultura Ecológica y Publicaciones*.
- Calvo-Araya, José Alonso, Germán Rivera-Coto, Steffany Orozco-Cayasso, and Rafael Orozco-Rodríguez. 2012. "Aislamiento y Evaluación in Vitro de La Antagonistas de *Botrytis Cinerea* En Mora." *Agronomía Mesoamericana* 23 (2): 225–31.
- Campuzano, Ana, Cristina M. Rosell, and Fabiola Cornejo. 2018. "Physicochemical and Nutritional Characteristics of Banana Flour during Ripening." *Food Chemistry* 256 (August): 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.113>.
- Cano, Mario Alejandro. 2011. "Interacción de Microorganismos Benéficos En Plantas: Micorrizas, *Trichoderma* Spp. y *Pseudomonas* Spp. Una Revisión." *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 14 (2): 15–31. <https://doi.org/10.31910/rudca.v14.n2.2011.771>.
- Carvalhais, Lilia C., Juliane Henderson, Vivian A. Rincon-Florez, Cecilia O'Dwyer, Elizabeth Czislawski, Elizabeth A.B. Aitken, and André Drenth. 2019. "Molecular Diagnostics of Banana Fusarium Wilt Targeting Secreted-in-Xylem Genes." *Frontiers in Plant Science* 10 (May). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00547>.
- Chabi, Mariano C., Anicet G. Dassou, Innocent Dossou-Aminon, David Ogouchoro, Bonaventure Omondi Aman, and Alexandre Dansi. 2018. "Banana and Plantain Production Systems in Benin: Ethnobotanical Investigation, Varietal Diversity, Pests, and Implications for Better Production." *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 14 (1). <https://doi.org/10.1186/s13002-018-0280-1>.
- Chen, Shuang Chen, Jing Ren, Hong Jiao Zhao, Xiang Li Wang, Tai Hang Wang, Sun Da Jin, Zhong Hong Wang, et al. 2019. "*Trichoderma Harzianum* Improves Defense against *Fusarium Oxysporum* by Regulating ROS and RNS Metabolism, Redox Balance, and

- Energy Flow in Cucumber Roots.” *Phytopathology* 109 (6): 972–82.  
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-18-0342-R>.
- Chen, Shuang-chen, Hong-jiao Zhao, Zhong-hong Wang, and Cai-xia Zheng. 2017. “*Trichoderma Harzianum* -Induced Resistance against *Fusarium Oxysporum* Involves Regulation of Nuclear DNA Content , Cell Viability and Cell Cycle- Related Genes Expression in Cucumber Roots.” *European Journal of Plant Pathology*, 43–53.  
<https://doi.org/10.1007/s10658-016-0978-7>.
- Cherkupally, Ramaraju, Hindumathi Amballa, and Bhumi Narasimha Reddy. 2017. “In Vitro Antagonistic Activity of *Trichoderma* Species against *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Melongenae*.” *International Journal of Applied Agricultural Research*. Vol. 12. <http://www.ripublication.com>.
- Contreras-Cornejo, Hexon Angel, Lourdes Macías-Rodríguez, Ek Del-Val, and John Larsen. 2016. “Full Title: Ecological Functions of *Trichoderma* Spp. and Their Secondary Metabolites in the Rhizosphere: Interactions with Plants Downloaded From.” *FEMS Microbiology Ecology Advance Access*.
- Contreras-Cornejo, Hexon Angel, Lourdes Macías-Rodríguez, Ek Del-Val1, and John Larsen. 2016. “Ecological Functions of *Trichoderma* Spp . and Their Secondary Metabolites in the Rhizosphere : Interactions with Plants.” *FEMS*, no. February: 1–
17. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw036>.
- Cucu, Maria Alexandra, Giovanna Gilardi, Massimo Pugliese, Maria Lodovica, and Angelo Garibaldi. 2019. “AGROINNOVA - Centre of Competence for the Innovation in the Agro-Environmental Sector , Department of Agricultural , Forest and Food Sciences ( DISAFA ), Turin University , Largo P .” *Biological Control*, 104158.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104158>.
- Damodaran, Thukkaram, Shailendra Rajan, Manoharan Muthukumar, Ram Gopal, Kavita Yadav, Sandeep Kumar, Israr Ahmad, Nidhi Kumari, Vinay K. Mishra, and Sunil K. Jha. 2020. “Biological Management of Banana Fusarium Wilt Caused by *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Tropical Race 4 Using Antagonistic Fungal Isolate CSR-T-3 (*Trichoderma Reesei*).” *Frontiers in Microbiology* 11 (December).  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.595845>.
- Das, M Mousumi, M Haridas, and A Sabu. 2018. “Biological Control of Black Pepper and Ginger Pathogens, *Fusarium Oxysporum*, *Rhizoctonia Solani* and *Phytophthora Capsici*, Using *Trichoderma* Spp.” *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 3.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.021>.
- Dini, Irene, Roberta Marra, Pierpaolo Cavallo, Angela Pironti, Immacolata Sepe, Jacopo Troisi, Giovanni Scala, Pasquale Lombardi, and Francesco Vinale. 2021. “*Trichoderma* Strains and Metabolites Selectively Increase the Production of Volatile Organic Compounds (Vocs) in Olive Trees.” *Metabolites* 11 (4).  
<https://doi.org/10.3390/metabo11040213>.

- Dita, M., P. Echegoyén, and L. Pérez. 2017. “ORGANISMO INTERNACIONAL REGIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA OIRSA PLAN DE CONTINGENCIA ANTE UN BROTE DE LA RAZA 4 TROPICAL DE FUSARIUM.”
- Dinkwar , G. T., V. K. Yadav, Ashish Kumar, Sushma Nema, and Shubham Mishra. 2023. “Compatibility of Fungicides With Potent Trichoderma Isolates”. *International Journal of Plant & Soil Science* 35 (18):1934-48.<https://doi.org/10.9734/ijpss/2023/v35i1834>
- Dong, Zhangyong, and Zhenzhong Wang. 2011. “Isolation and Characterization of an Exopolysaccharonase from *Fusarium Oxysporum* f.Sp. *Cubense* Race 1 and Race 4.” *BMC Biochemistry* 12 (1): 51. <https://doi.org/10.1186/1471-2091-12-51>.
- Druzhinina, Irina S., Ekaterina Shelest, and Christian P. Kubicek. 2012. “Novel Traits of *Trichoderma* Predicted through the Analysis of Its Secretome.” *FEMS Microbiology Letters*. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02665.x>.
- Dutta, Pranab, Madhusmita Mahanta, Soibam Basanta Singh, Dwipendra Thakuria, Lipa Deb, Arti Kumari, Gunadhya K. Upamanya, et al. 2023. “Molecular Interaction between Plants and *Trichoderma* Species against Soil-Borne Plant Pathogens.” *Frontiers in Plant Science*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1145715>.
- Echegoyen, P. 2013. “Plan de Contingencia Ante Un Brote de La Raza 4 Tropical de *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* En Un País de La Región Del OIRSA.”
- Estifanos Tsegaye Redda, Jing Ma, Jie Mei, Mei Li, Beilei Wu, and Xiliang Jiang. 2018. “Biological Control of Soilborne Pathogens (*Fusarium Oxysporum* F. Sp. Cucumerinum) of Cucumber (*Cucumis Sativus*) by *Trichoderma* Sp.” *Journal of Life Sciences* 12 (1). <https://doi.org/10.17265/1934-7391/2018.01.001>.
- Ezziyyani, M, C Pérez-Sánchez, and ME Requena. 2004. “Biocontrol Por *Streptomyces Rochei-Ziyani*-, de La Podre Dumbre Del Pimiento (*Capsicum Annuum* L.) Causada Por *Phytophthora Capsici*.” *Anales de Biología* 26: 69–78.
- Ezziyyani, Mohammed, Consuelo Pérez Sánchez, María Emilia Requena, Luis Rubio, María Emilia Candela, and Correspondencia M E Candela. 2004. “Biocontrol Por *Streptomyces Rochei-Ziyani*-, de La Podredumbre Del Pimiento (*Capsicum Annuum* L.) Causada Por *Phytophthora Capsici*.” *Anales de Biología*. Vol. 26.
- FAO. 2018. “BANANA MARKET REVIEW: Preliminary Results for 2018.” *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Vol. CC BY-NC-S.
- . 2019a. *Indicadores de Producción Del Banano a Nivel Mundial*. Houston - Estados Unidos: FAO publicaciones.
- . 2019b. *Indicadores Del Sector Bananero Mundial*. Roma - Italia: FAO publicaciones.
- Frisvad, Jens C., Lars L.H. Møller, Thomas O. Larsen, Ravi Kumar, and José Arnau. 2018. “Safety of the Fungal Workhorses of Industrial Biotechnology: Update on the Mycotoxin and Secondary Metabolite Potential of *Aspergillus Niger*, *Aspergillus Oryzae*,

- and *Trichoderma Reesei*.” *Applied Microbiology and Biotechnology*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9354-1>.
- Gabriela Coba. 2022. “Ecuador: 1142 Empresas Sienten El Impacto de La Guerra Contra Ucrania.” *Primicias*. 2022.
- Galarza, Luis, Yasunori Akagi, Kazumi Takao, Chang Sun Kim, Nitaro Maekawa, Akihiro Itai, Esther Peralta, Efrén Santos, and Motoichiro Kodama. 2015. “Characterization of *Trichoderma* Species Isolated in Ecuador and Their Antagonistic Activities against Phytopathogenic Fungi from Ecuador and Japan.” *Journal of General Plant Pathology* 81 (3): 201–10. <https://doi.org/10.1007/s10327-015-0587-x>.
- Gava, Carlos Alberto Tuão, and José Maria Pinto. 2016. “Biocontrol of Melon Wilt Caused by *Fusarium Oxysporum* Schlect f. Sp. Melonis Using Seed Treatment with *Trichoderma* Spp. and Liquid Compost.” *Biological Control* 97 (June): 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.02.010>.
- Gisi, Ulrich, and Helge Sierotzki. 2008a. “Fungicide Modes of Action and Resistance in Downy Mildews.” In *European Journal of Plant Pathology*, 122:157–67. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9290-5>.
- . 2008b. “Fungicide Modes of Action and Resistance in Downy Mildews.” In *European Journal of Plant Pathology*, 122:157–67. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9290-5>.
- Gondard, and Pierre. 1986. “Cambios Historicos En El Aprovechamiento Del Medio Natural Ecuatoriano : Papel de La Demanda Social.”
- Gonzabay, J, R Pacheco, E Santos, and V Zuñiga. 2016. “Determinación de La Presencia de *Fusarium Oxysporum* En Banano Mediante PCR.” In *ESPOL CIBB*.
- González, M. F., L. Galarza, L. L. Valdez, and G. M. Quizhpe. 2023. “Antifungal Activity of Metabolites from *Trichoderma* Spp. against *Fusarium Oxysporum*.” *Bionatura*. Clinical Biotec, Universidad Católica del Oriente (UCO). <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.02.7>.
- González, Maria F., Luis Galarza, and Angel Hidalgo. 2021. “Systematic Study of Research Issued by the Five Main Banana Exporting Countries in the World: Ecuador, Philippines, Costa Rica, Colombia and Guatemala towards the Fungicidal Effect of *Trichoderma* Spp. to Inhibit the Growth of *Fusarium Oxysporum* in Banana .”
- Gonzalez, María Fernanda, Freddy Magdama, Luis Galarza, Daynet Sosa, and Christian Romero. 2020. “Evaluation of the Sensitivity and Synergistic Effect of *Trichoderma Reesei* and Mancozeb to Inhibit under in Vitro Conditions the Growth of *Fusarium Oxysporum*.” *Communicative and Integrative Biology* 13 (1): 160–69. <https://doi.org/10.1080/19420889.2020.1829267>.
- Groenewald, Susan, Noëłani Van Den Berg, Walter F O Marasas, and Altus Viljoen.

2006. “The Application of High-Throughput AFLP’s in Assessing Genetic Diversity in *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense*.” *Mycological Research* 110 (3): 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2005.10.004>.
- Gullino, Maria Lodovica, Federico Tinivella, Angelo Garibaldi, Gregory M. Kemmitt, Leonardo Bacci, and Brian Sheppard. 2010. “Mancozeb: Past, Present, and Future.” *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-9-1076>.
- Guzmán-Guzmán, Paulina, Ajay Kumar, Sergio de los Santos-Villalobos, Fannie I. Parra-Cota, Ma del Carmen Orozco-Mosqueda, Ayomide Emmanuel Fadiji, Sajjad Hyder, Olubukola Oluranti Babalola, and Gustavo Santoyo. 2023. “*Trichoderma* Species: Our Best Fungal Allies in the Biocontrol of Plant Diseases—A Review.” *Plants*. MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants12030432>.
- Hu, Dongqiang, Song Yu, Dianzhen Yu, Na Liu, Yan Tang, Yingying Fan, C. Wang, and Aibo Wu. 2019. “Biogenic *Trichoderma Harzianum*-Derived Selenium Nanoparticles with Control Functionalities Originating from Diverse Recognition Metabolites against Phytopathogens and Mycotoxins.” *Food Control* 106 (December). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106748>.
- ICA. 2019. “Estado de Emergencia Fitosanitaria En El Territorio Nacional Por La Presencia de La Enfermedad Conocida Como Marchitez de Las Musáceas Por Foc R4T.”
- Infante, D., B. Martínez, N. González, and Y. Reyes. 2009. “Mecanismos de Acción de *Trichoderma* Frente a Hongos Fitopatógenos.” *Revista de Protección Vegetal*, 2009.
- Jegert, M J, J M Wallet+, A Johansons, and S R Gowen. 1996. “Monitoring in Banana Pest Management\*.” *ELSEVIER*, no. 96: 3–397.
- Joshi, Renu. 2018. “A Review of *Fusarium Oxysporum* on Its Plant Interaction and Industrial Use.” *Journal of Medicinal Plants Studies* 6 (3b): 112–15. <https://doi.org/10.22271/plants.2018.v6.i3b.07>.
- Kannan, Vijayaragahavan, and Raman Sureendar. 2009a. “Synergistic Effect of Beneficial Rhizosphere Microflora in Biocontrol and Plant Growth Promotion.” *Journal of Basic Microbiology* 49 (2): 158–64. <https://doi.org/10.1002/jobm.200800011>.
- . 2009b. “Synergistic Effect of Beneficial Rhizosphere Microflora in Biocontrol and Plant Growth Promotion.” *Journal of Basic Microbiology* 49 (2): 158–64. <https://doi.org/10.1002/jobm.200800011>.
- Khan, Mujeebur Rahman, Ziaul Haque, Farahnaz Rasool, Khalid Salati, Uzma Khan, Fayaz A. Mohiddin, and Mohammad Zuhaib. 2019. “Management of Root-Rot Disease Complex of Mungbean Caused by *Macrophomina Phaseolina* and *Rhizoctonia Solani* through Soil Application of *Trichoderma* Spp.” *Crop Protection* 119 (May): 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.01.014>.
- Khan, Raja Asad Ali, Saba Najeeb, Shaikat Hussain, Bingyan Xie, and Yan Li. 2020a. “Bioactive Secondary Metabolites from *Trichoderma* Spp. Against Phytopathogenic Fungi.” *Microorganisms*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060817>.

- . 2020b. “Bioactive Secondary Metabolites from *Trichoderma* Spp. Against Phytopathogenic Fungi.” *Microorganisms*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060817>.
- Kleinstreuer, Nicole C., David J. Dix, Keith A. Houck, Robert J. Kavlock, Thomas B. Knudsen, Matthew T. Martin, Katie B. Paul, et al. 2012. “In Vitro Perturbations of Targets in Cancer Hallmark Processes Predict Rodent Chemical Carcinogenesis.” *Toxicological Sciences* 131 (1): 40–55. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs285>.
- Kleinstreuer, Nicole C, David J Dix, Keith A Houck, Robert J Kavlock, Thomas B Knudsen, Matthew T Martin, Katie B Paul, et al. 2013. “In Vitro Perturbations of Targets in Cancer Hallmark Processes Predict Rodent Chemical Carcinogenesis.” *Toxicological Sciences* 131 (1): 40–55. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs285>.
- Kubiak, Adrianna, Agnieszka Wolna-Maruwka, Agnieszka A. Pilarska, Alicja Niewiadomska, and Agnieszka Piotrowska-Cyplik. 2023. “Fungi of the *Trichoderma* Genus: Future Perspectives of Benefits in Sustainable Agriculture.” *Applied Sciences (Switzerland)*. MDPI. <https://doi.org/10.3390/app13116434>.
- kubicek. 2002. *Kubicek. Kubicek* . Vol. 1.
- Kubicek, Christian P., Alfredo Herrera-Estrella, Verena Seidl-Seiboth, Diego A. Martinez, Irina S. Druzhinina, Michael Thon, Susanne Zeilinger, et al. 2011. “Comparative Genome Sequence Analysis Underscores Mycoparasitism as the Ancestral Life Style of *Trichoderma*.” *Genome Biology* 12 (4). <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-4-r40>.
- Kumar Chaube, Sambod, and Saugat Pandey. 2022. “Malaysian Journal of Sustainable Agriculture (MJSA) 6(2) (2022) 97-100 Malaysian Journal of Sustainable Agriculture (MJSA) TRICHODERMA: A VALUABLE MULTIPURPOSE FUNGUS FOR SUSTAINABLE AGRICULTURE.” <https://doi.org/10.26480/mysj.02.2022.97.100>.
- Kumari, Nidhi, and S. Srividhya. 2020. “Secondary Metabolites and Lytic Tool Box of *Trichoderma* and Their Role in Plant Health.” In *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*, 305–20. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818469-1.00025-0>.
- Li, Meng Fei, Guo Hong Li, and Ke Qin Zhang. 2019. “Non-Volatile Metabolites from *Trichoderma* Spp.” *Metabolites*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/metabo9030058>.
- Llauger et al. 2022. 2022. Estrategia y Plan de Acción Regional Para La Preparación, Prevención, Detección, Respuesta y Recuperación de América Latina y El Caribe a La Marchitez Por *Fusarium* de Las Musáceas - Raza 4 Tropical. Estrategia y Plan de Acción Regional Para La Preparación, Prevención, Detección, Respuesta y Recuperación de América Latina y El Caribe a La Marchitez Por *Fusarium* de Las Musáceas - Raza 4 Tropical. FAO. <https://Doi.Org/10.4060/Cb8674es>.  
Estrategia y Plan de Acción Regional Para La Preparación, Prevención, Detección, Respuesta y Recuperación de América Latina y El Caribe a La Marchitez Por *Fusarium* de Las Musáceas - Raza 4 Tropical. FAO. <https://doi.org/10.4060/cb8674es>.

- Lombardi, Nadia, Anna Maria Salzano, Antonio Dario Troise, Andrea Scaloni, Paola Vitaglione, Francesco Vinale, Roberta Marra, et al. 2020. "Effect of Trichoderma Bioactive Metabolite Treatments on the Production, Quality, and Protein Profile of Strawberry Fruits." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68 (27): 7246–58. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01438>.
- los Santos-Villalobos, Sergio de, Doralinda A. Guzmán-Ortiz, Miguel A. Gómez-Lim, John P. Délano-Frier, Stefan de-Folter, Prometeo Sánchez-García, and Juan J. Peña-Cabrales. 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>.
- Lyubenova, Aneta, Mila Rusanova, Milena Nikolova, and Slavtcho B. Slavov. 2023. "Plant Extracts and Trichoderma Spp: Possibilities for Implementation in Agriculture as Biopesticides." *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/13102818.2023.2166869>.
- Macías-Rodríguez, Lourdes, Hexon Angel Contreras-cornejo, Sandra Goretti Adame-garnica, and John Larsen. 2020. "The Interactions of *Trichoderma* at Multiple Trophic Levels: Inter-Kingdom Communication." *Microbiological Research*. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126552>.
- Malandrakis, Anastasios, Efrosini Rafaella Daskalaki, Vasiliki Skiada, Kalliope K. Papadopoulou, and Nektarios Kavroulakis. 2018. "A *Fusarium Solani* Endophyte vs Fungicides: Compatibility in a *Fusarium Oxysporum* f.Sp. *Radicalis-Lycopersici* – Tomato Pathosystem." *Fungal Biology* 122 (12): 1215–21. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.10.003>.
- Manganiello, Gelsomina, Adriana Sacco, Maria R. Ercolano, Francesco Vinale, Stefania Lanzuise, Alberto Pascale, Mauro Napolitano, Nadia Lombardi, Matteo Lorito, and Sheridan L. Woo. 2018. "Modulation of Tomato Response to *Rhizoctonia Solani* by *Trichoderma Harzianum* and Its Secondary Metabolite Harzianic Acid." *Frontiers in Microbiology* 9 (AUG). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01966>.
- María Samaniego-Fernández, Luz, Maimouna Harouna, Odalys Corbea, Ana Julia Rondón-Castillo, and Iraní Placeres-Espinosa. 2018. "Artículo Original Aislamiento, Identificación y Evaluación de Cepas Autóctonas de *Trichoderma* Spp. Antagonistas de Patógenos Del Suelo Isolation, Identification, and Evaluation of Indigenous Strains of *Trichoderma* Spp. as Antagonistic Fungi of Soil Pathogens."
- Marik, Tamás, Chetna Tyagi, Dóra Balázs, Péter Urbán, Ágnes Szepesi, László Bakacsy, Gábor Endre, et al. 2019. "Structural Diversity and Bioactivities of Peptaibol Compounds From the Longibrachiatum Clade of the Filamentous Fungal Genus *Trichoderma* ." *Frontiers in Microbiology* .
- Martinez L. 2016.
- "Mal de Panamá *Fusarium Oxysporum* f. Sp. Cubense (E.F. Sm.) W. C. Snyder & H. N. Hansen Raza 4 Tropical (Foc R4T)."

Maruyama, Cintia Rodríguez, Natália Bilesky-José, Renata de Lima, and Leonardo Fernandes Fraceto. 2020. “Encapsulation of *Trichoderma Harzianum* Preserves Enzymatic Activity and Enhances the Potential for Biological Control.” *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 8 (March). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00225>.

Matas-Baca, Miguel Angel, María Antonia Flores-Córdova, Sandra Pérez-Álvarez, María Janeth Rodríguez-Roque, Nora Aideé Salas-Salazar, Mayra Cristina Soto- Caballero, and Esteban Sánchez-Chávez. 2023. “*Trichoderma* Fungi as an Agricultural Biological Control in Mexico.” *Revista Chapingo, Serie Horticultura*. Universidad Autónoma Chapingo. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2022.11.015>.

Maymon, M, D Minz, A Zveibil, Y Elad, and S Freeman. 2004. “NOTE: Identification of *Trichoderma* Biocontrol Isolates to Clades According to Ap-PCR and ITS Sequence Analyses.” *Phytoparasitica*. Vol. 32.

Mesa Vanegas, Ana María, Duber Alexander Marín Pavas, and Jaime Calle Osorno.

2020. “Metabolitos Secundarios En *Trichoderma* Spp. y Sus Aplicaciones Biotecnológicas Agrícolas.” *Actualidades Biológicas* 41 (111): 1–13. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02>.

Minh Luan, Nguyen. 2018. “Biostimulant Effects of Rhizobacteria on Wheat Growth and Nutrient Uptake under Contrasted N Supplies.”

Mousumi Das, M., M. Haridas, and A. Sabu. 2019. “Biological Control of Black Pepper and Ginger Pathogens, *Fusarium Oxysporum*, *Rhizoctonia Solani* and *Phytophthora Capsici*, Using *Trichoderma* Spp.” *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 17 (January): 177–83. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.021>.

Mukherjee, Prasun K, Benjamin A Horwitz, and Charles M Kenerley. 2012. “Secondary Metabolism in *Trichoderma*—a Genomic Perspective.” *Microbiology* 158 (1): 35–

45.

Muñoz Wilfrido, Morejón Darwin, and Guerrero Andrés. 2021. “Estrategia Nacional Para La Prevención, Detección y Control de La Plaga FOC R4T by ECU911 - Issuu.” *COE Nacional*.

NapitupuluIlyas, M, A Kanti, and Sudiana Im. 2019. “In Vitro Evaluation of *Trichoderma Harzianum* Strains for the Control of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense*” 9 (January): 152–59. <https://doi.org/10.5943/ppq/9/1/13>.

Nel, B., C. Steinberg, N. Labuschagne, and A. Viljoen. 2007. “Evaluation of Fungicides and Sterilants for Potential Application in the Management of *Fusarium* Wilt of Banana.” *Crop Protection* 26 (4): 697–705. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.06.008>.

Nordin, Mohd-Al-Faisal, Wan Himratul Aznita, Wan Harun, and Fathilah Abdul Razak. 2013. “Antifungal Susceptibility and Growth Inhibitory Response of Oral *Candida* Species to *Brucea Javanica* Linn. Extract.” *BMC*. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/13/342>.

- Norte, C. do, L. C, J. Silva, and H. Maia. 2019. "CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVARES DE MANGA E BANANA." 2019.
- Nurse, K. 2015. *Allies As Rivals: The US, Europe and Japan in a Changing World- System. HEGEMONIC RIVALRY AND THE PERIPHERY: THE CASE OF THE TRANS-ATLANTIC "BANANA WARS"*. Political Economy of the world-system annuals.
- Pachauri, Shikha, Pramod D Sherkhane, and Prasun K Mukherjee. 2019. "Secondary Metabolism in *Trichoderma*: Chemo- and Geno-Diversity BT - Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications: Volume 2. Soil & Agroecosystems." In , edited by Tulasi Satyanarayana, Subrata Kumar Das, and Bhavdish Narain Johri, 441–56. Singapore: Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8487-5\\_17](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8487-5_17).
- Pastrano, Daniel. 2018. *Estudio Técnico de La Incidencia Del Fusarium Oxysporum En Cultivos Agrícolas*. Alta Verapaz - Guatemala: Prometeo ediciones científicas.
- Peláez - Álvarez, Abigail, Sergio De Los Santos - Villalobos, Enrico A Yépez, Fannie Isela Parra-Cota, and Reyna Trinidad Reyes-Rodríguez. 2016. "Synergistic Effect of *Trichoderma Asperelleum* T8A and Captan 50® against *Colletotrichum Gloeosporioides* (Penz.)." *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Vol. 7.
- Peláez - Álvarez, Abigail, Sergio De Los Santos - villalobos, Enrico A Yépez, Fannie Isela, and Parra-cota Reyna. 2016. "Synergistic Effect of *Trichoderma Asperelleum* T8A and Captan 50® against *Colletotrichum Gloeosporioides* (Penz.) Abigail." *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7 (6): 1401–12.
- Perez Moreno L, Belmonte Vargas Jose Roberto, Nuñez Palenius Hector Gordon, Guzmán Mendoza Rafael, and Mendoza Celedón Briseida. 2015. "Sensibilidad in Vitro de Dos Especies de *Sclerotinia* Spp. y *Sclerotium Cepivorum* a Agentes de Control Biológico y Fungicidas." *Revista Mexicana de FITOPATOLOGIA*.
- Pérez-Vicente, Luis. 2016. "BANANA FARM BEST PRACTICES FOR PREVENTION OF FUSARIUM WILT TR4 AND OTHER EXOTIC BANANA DISEASES."
- Ploetz, Randy C. 2006. "*Fusarium* Wilt of Banana Is Caused by Several Pathogens Referred to as *Fusarium Oxysporum* f. Sp. Cubense." *Phytopathology* 96 (6): 653–56. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0653>.
- Puerto Rodríguez, Asela M del, Susana Suárez Tamayo, and Daniel E Palacio Estrada. 2014. "Efectos de Los Plaguicidas Sobre El Ambiente y La Salud." *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 52 (3): 372–87.
- Rahel Ratnakumari, Y, Sarojini K Chakravarthy, and Rahel Y Ratnakumari. 2011. "Antagonistic Ability Against *Rhizoctonia Solani* And Pesticide Tolerance Of

Trichoderma Strains.” *Article in The Scientific World Journal* 5 (9): 2631–38.  
<https://www.researchgate.net/publication/221705979>.

Rahman Khan, Mujeebur, Shumaila Shahid, Fayaz A. Mohidin, and Uzma Mustafa.

2017. “Interaction of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. Gladioli and Meloidogyne Incognita on Gladiolus Cultivars and Its Management through Corm Treatment with Biopesticides and Pesticides.” *Biological Control* 115 (December): 95–104.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.09.010>.

Revelo, Jorge. 1991. “INIAP -Estación Experimental Santa Catalina.” *Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Departamento de Protección Vegetal, 1991*, 1 – 8.

Rivera-Méndez, William, Jaime Brenes-Madriz, and Olga Zúñiga-Vega. 2018. “Efectos

de La Aplicación de *Trichoderma Asperellum* y Su Filtrado En El Crecimiento de Almacigos de Cebolla (*Allium Cepa*).” *Revista Tecnología En Marcha* 31 (2): 98. <https://doi.org/10.18845/tm.v31i2.3627>.

Robins, F. 2019. “Control Biológico de La Marchitez Por *Fusarium Oxysporum* Utilizando Té de Compost, *Trichoderma* Spp. y *Bacillus Subtilis*, En Plantas de Banano Del Cultivar ‘Gros Michel’ (*Musa AAA*) Bajo Condiciones de Invernadero En Guápiles, Limón, Costa Rica.” In *Universidad de Costa Rica*.

Röhrich, Christian R, Walter M Jaklitsch, Hermann Voglmayr, Anita Iversen, Andreas Vilcinskas, Kristian Fog Nielsen, Ulf Thrane, Hans von Döhren, Hans Brückner, and Thomas Degenkolb. 2014. “Front Line Defenders of the Ecological Niche!

Screening the Structural Diversity of Peptaibiotics from Saprotrophic and Fungicolous *Trichoderma/Hypocrea* Species.” *Fungal Diversity* 69 (1): 117–46. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0276-z>.

Román, Romero, and Junior Manuel. 2018. “UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA MACHALA 2018.”

Runkle, Jennifer, Joan Flocks, Jeannie Economos, and Anne L. Dunlop. 2017. “A Systematic Review of Mancozeb as a Reproductive and Developmental Hazard.” *Environment International*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.11.006>.

Sachdev, Swati, and Rana Pratap Singh. 2020. “*Trichoderma*: A Multifaceted Fungus for Sustainable Agriculture.” In *Ecological and Practical Applications for Sustainable Agriculture*, 261–304. Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-3372-3\\_13](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3372-3_13).

Saravanakumar, Kandasamy, Chuanjin Yu, Kai Dou, Meng Wang, Yaqian Li, and Jie Chen. 2016. “Synergistic Effect of *Trichoderma*-Derived Antifungal Metabolites and Cell Wall Degrading Enzymes on Enhanced Biocontrol of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cucumerinum*.” *Biological Control* 94 (March): 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.12.001>.

Seiboth, Bernhard, Razieh Aghcheh Karimi, Pallavi A. Phatale, Rita Linke, Lukas Hartl, Dominik G. Sauer, Kristina M. Smith, Scott E. Baker, Michael Freitag, and Christian P. Kubicek. 2012. “The Putative Protein Methyltransferase LAE1 Controls Cellulase Gene Expression in *Trichoderma Reesei*.” *Molecular Microbiology* 84 (6): 1150–64. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2012.08083.x>.

Shahriar, Saleh Ahmed, M. Nazrul Islam, Charles Ng Wai Chun, Parwinder Kaur, Md Abdur Rahim, Md Mynul Islam, Jasim Uddain, and Shafiquzzaman Siddiquee.

2022. “Microbial Metabolomics Interaction and Ecological Challenges of Trichoderma Species as Biocontrol Inoculant in Crop Rhizosphere.” *Agronomy*. MDPI. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040900>.

Shenouda, Mary L, Maria Ambilika, and Russell J Cox. 2021. “*Trichoderma Reesei* Contains a Biosynthetic Gene Cluster That Encodes the Antifungal Agent Ilicicolin H.” *Journal of Fungi* 7 (12): 1034.

Singh, Ankit Kumar, Ankush Kumar, Ramji Singh, Rahul Saini, Sunny Maanju, Munish Leharwan, Vrinda Sehgal, Brijesh Kumar, and Pooshpendra Singh Dixit. 2023. “Revolutionary Role of Trichoderma in Sustainable Plant Health Management: A Review.” *International Journal of Environment and Climate Change* 13 (11): 4203–17. <https://doi.org/10.9734/ijecc/2023/v13i113600>.

Sinha, Ankita, Ramesh Singh, and Ankur Verma. 2018. “Bioefficacy of *Trichoderma Harzianum* and *Trichoderma Viride* against *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Capsici* Causing Wilt Disease in Chilli.” ~ 965 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7 (5). <http://agriculture.gov.in>.

Speckbacher, Verena. 2018. “Secondary Metabolites of Mycoparasitic Fungi.” In , edited by Susanne Zeilinger ED1 - Ramasamy Vijayakumar ED2 - Suresh S S Raja, Ch. 3. Rijeka: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75133>.

Stracquadanio, Claudia, Juan Manuel Quiles, Giuseppe Meca, and Santa Olga Cacciola.

2020. “Antifungal Activity of Bioactive Metabolites Produced by *Trichoderma Asperellum* and *Trichoderma Atroviride* in Liquid Medium.” *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)* 6 (4): 1–18. <https://doi.org/10.3390/jof6040263>.

“Systemic Effects of the Pesticide Mancozeb – A Literature Review.” n.d. Tchameni, Severin Nguemezi, Mihaela Cotârleț, Ioana Otilia Ghinea, Marie Ampere

Boat Bedine, Modeste Lambert Sameza, Daniela Borda, Gabriela Bahrim, and Rodica Mihaela Dinică. 2020. “Involvement of Lytic Enzymes and Secondary Metabolites Produced by *Trichoderma* Spp. in the Biological Control of *Pythium Myriotylum*.” *International Microbiology* 23 (2): 179–88. <https://doi.org/10.1007/s10123-019-00089-x>.

Tian, Ye, Dianzhen Yu, Na Liu, Yan Tang, Zheng Yan, and Aibo Wu. 2020. “Confrontation Assays and Mycotoxin Treatment Reveal Antagonistic

Activities of *Trichoderma* and the Fate of *Fusarium* Mycotoxins in Microbial Interaction.” *Environmental Pollution* 267 (December).  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115559>.

Tirado-Gallego, Paola Andrea, Andrea Lopera-Álvarez, and Leonardo Alberto Ríos-Osorio. 2016a. “Estrategias de Control de *Moniliophthora Roreri* y *Moniliophthora Perniciosa* En *Theobroma Cacao* L.: Revisión Sistemática TT - Strategies for Control of *Moniliophthora Roreri* and *Moniliophthora Perniciosa* in *Theobroma Cacao* L.: A Systematic Review TT - Es.” *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 17 (0122–8706): 417–30.

———. 2016b. “Estrategias de Control de *Moniliophthora Roreri* y *Moniliophthora Perniciosa* En *Theobroma Cacao* L.: Revisión Sistemática.” *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. Corporacion Colombiana de Investigacion Agropecuaria Corpoica. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol17\\_num3\\_art:517](https://doi.org/10.21930/rcta.vol17_num3_art:517).

TradeMap. 2019. *Indicadores y Valores de Producción Bananera*. San José - Costa Rica: TradeMap publicaciones.

Ulloa, Carlos. 2018. *Importancia Del Trichoderma Ssp. En El Cuidado Agrícola*. Barcelona - España: Central editora de investigaciones agrícolas de España.

U.S. Department of agriculture. 2019. “Bananas, Ripe and Slightly Ripe, Raw.” Agricultural Research Service. 2019.

Vallejo, Maria, Cristina Troya, and Edwin Pallo. 2017. “Evaluación de Tres Medios de Cultivo Para Producción de Bioinsumos a Base de *Trichoderma* Spp.” In *Tercer Simposio En Fitopatología Control Biológico e Interacciones Planta-Patogeno*,

VI, Gwa. 2018. “Evaluation of Antagonistic Effect of *Trichoderma Harzianum* against *Fusarium Oxysporum* Causal Agent of White Yam (*Dioscorea rotundata* Poir) Tuber Rot.” *Trends in Technical & Scientific Research* 1 (1). <https://doi.org/10.19080/ttsr.2018.01.555554>.

Vinale, Francesco, Krishnapillai Sivasithamparam, Emilio L Ghisalberti, Sheridan L Woo, Marco Nigro, Roberta Marra, Nadia Lombardi, et al. 2014a. “Send Orders for Reprints to Reprints@benthamscience.” *The Open Mycology Journal*. Vol. 8.

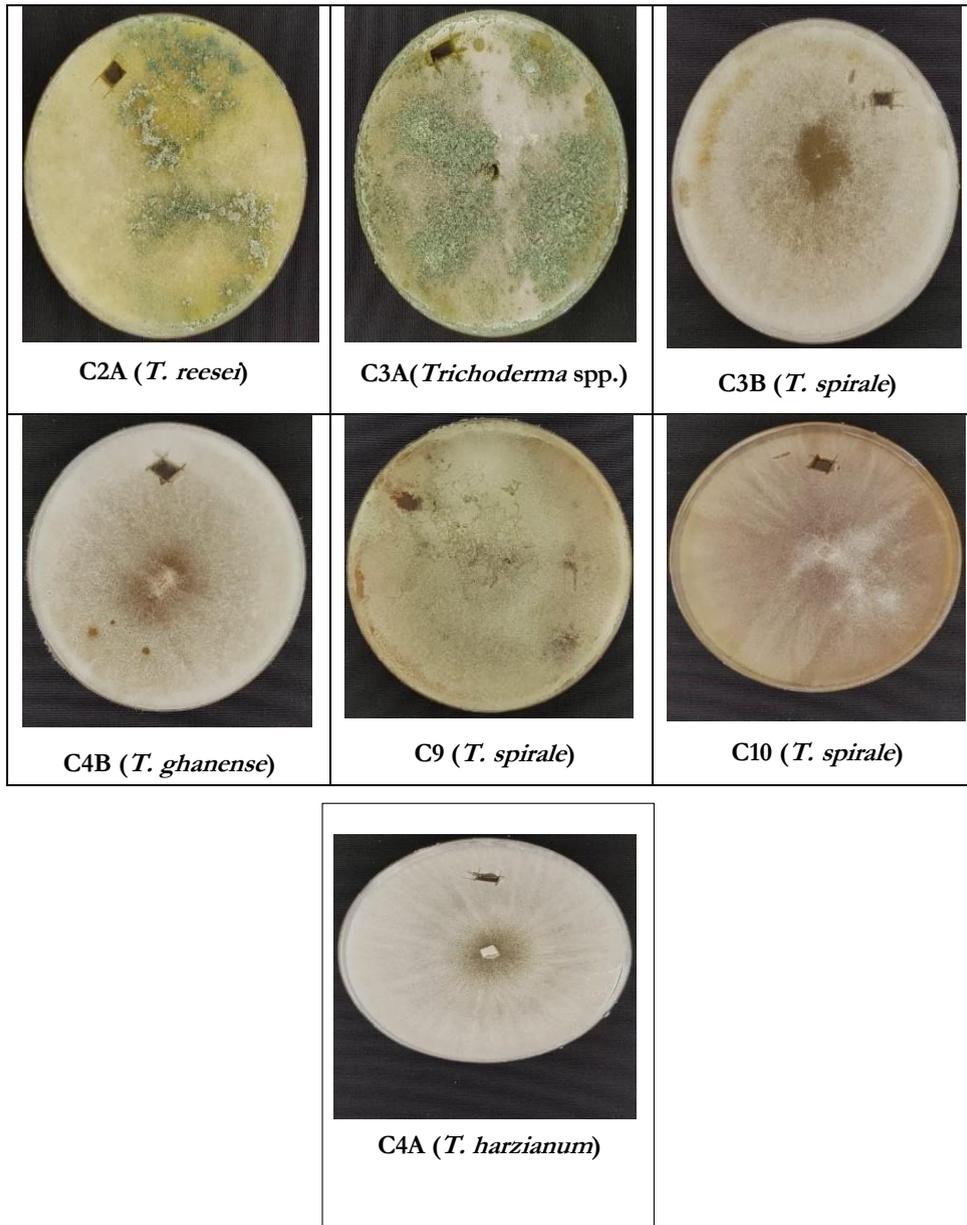
———. 2014b. “Trichoderma Secondary Metabolites Active on Plants and Fungal Pathogens,” 127–39.

Vinale, Francesco, Judyta Strakowska, Pierluigi Mazzei, Alessandro Piccolo, Roberta Marra, Nadia Lombardi, Gelsomina Manganiello, Alberto Pascale, Sheridan L. Woo, and Matteo Lorito. 2016. “Cremenolide, a New Antifungal, 10-Member Lactone from *Trichoderma Cremoium* with Plant Growth Promotion Activity.”

- Waller, Derek G., and Anthony P. Sampson. 2018. “Principles of Pharmacology and Mechanisms of Drug Action.” In *Medical Pharmacology and Therapeutics*, 3–31. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-7167-6.00001-4>.
- Washington, J.R.; Cruz, J.; Fajardo, M. 1998. “Estudios de Infección Con *Mycosphaerella Fijiensis* En Bananos y Control de La Sigatoka Negra Con Clorotalonil.” Red Internacional Para El Mejoramiento Del Banano y Plátano, (INIBAP). 1998.
- Watts, R, J Dahiya, K Chaudhary, and P Tauro. 1988. “Isolation and Characterization of a New Antifungal Metabolite Of *Trichoderma Reesei*.” *Plant and Soil* 107 (1): 81– 84.
- Wedajo, Bikila. 2015. “Compatibility Studies of Fungicides with Combination of *Trichoderma* Species under In Vitro Conditions.” *Virology & Mycology* 04 (02). <https://doi.org/10.4172/2161-0517.1000149>.
- Whitmore, Lee, and B. A. Wallace. 2004. “The Peptaibol Database: A Database for Sequences and Structures of Naturally Occurring Peptaibols.” *Nucleic Acids Research* 32 (DATABASE ISS.): 593–94. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh077>.
- Woo, Sheri, Vincenzo Fogliano, Felice Scala, and Matteo Lorito. 2002. “Synergism between Fungal Enzymes and Bacterial Antibiotics May Enhance Biocontrol,” 353–56.
- Wu, Cindy H., Stéphanie M. Bernard, Gary L. Andersen, and Wilfred Chen. 2009. “Developing Microbe-Plant Interactions for Applications in Plant-Growth Promotion and Disease Control, Production of Useful Compounds, Remediation and Carbon Sequestration.” *Microbial Biotechnology*. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00109.x>.
- Xu, Jin, Xiaofang Long, Shijia Ge, Mengli Li, Lingzhu Chen, Deyu Hu, and Yuping Zhang. 2019. “Deposition Amount and Dissipation Kinetics of Difenoconazole and Propiconazole Applied on Banana with Two Commercial Spray Adjuvants.” *RSC Advances* 9 (34): 19780–90. <https://doi.org/10.1039/c9ra02874a>.
- Xu, Lin, and Danny Geelen. 2018. “Developing Biostimulants from Agro-Food and Industrial by-Products.” *Frontiers in Plant Science*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01567>.

- Yang, Chao, Chantal Hamel, Vladimir Vujanovic, and Yantai Gan. 2011. "Fungicide: Modes of Action and Possible Impact on Nontarget Microorganisms." *ISRN Ecology* 2011 (October): 1–8. <https://doi.org/10.5402/2011/130289>.
- Yang, Zihuayuan, Ying Qiao, Junying Li, Fu-Gen Wu, and Fengming Lin. n.d. "A Novel Water-Soluble Photosensitizer for Photodynamic Inactivation of Gram-Positive Bacteria." <https://doi.org/10.1101/2020.05.29.124768>.
- Yao, Xin, Hailin Guo, Kaixuan Zhang, Mengyu Zhao, Jingjun Ruan, and Jie Chen. 2023. "Trichoderma and Its Role in Biological Control of Plant Fungal and Nematode Disease." *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>.
- Yossen, Viviana E., & Conles, Martha Y. 2014. "Eficacia de Fungicidas in Vitro Para El Control de *Fusarium Oxysporum* y *F. Proliferatum*, Agentes Causales de Marchitamiento En El Cultivo de Orégano En La Argentina." 2014. [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-30182014000100003&lng=es&tlng=](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30182014000100003&lng=es&tlng=).
- Zapata Henao, Sebastian. 2019. "Desarrollo de Estrategias de Control Del Fitopatógeno *Fusarium Oxysporum* f. Sp. Cubense (Foc) a Partir de La Diversidad Microbiana."
- Zhang, Ju-cheng, Guang-yi Chen, Xiao-zhan Li, Ming Hu, and Bang-yan Wang. 2017. "Phytotoxic , Antibacterial , and Antioxidant Activities of Mycotoxins and Other Metabolites From." *Natural Product Research* 6419 (October): 0. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1295235>.
- Zhang, Shuxiang, Feifei Sun, Lijun Liu, Liyun Bao, Wei Fang, Caiping Yin, and Yinglao Zhang. 2020. "Dragonfly-Associated *Trichoderma Harzianum* QTYC77 Is Not Only a Potential Biological Control Agent of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cucumerinum* but Also a Source of New Antibacterial Agents." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68 (48): 14161–67. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05760>.
- Zhu, Fengchang, Xi Zhao, Junping Li, Lianhong Guo, Liping Bai, and Xiaoqiang Qi. 2020. "A New Compound Trichomicin Exerts Antitumor Activity through STAT3 Signaling Inhibition." *Biomedicine and Pharmacotherapy* 121 (January). <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109608>.
- Zin, Nur A., and Noor A. Badaluddin. 2020. "Biological Functions of Trichoderma Spp. for Agriculture Applications." *Annals of Agricultural Sciences*. Faculty of Agriculture, Ain-Shams University. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2020.09.003>.

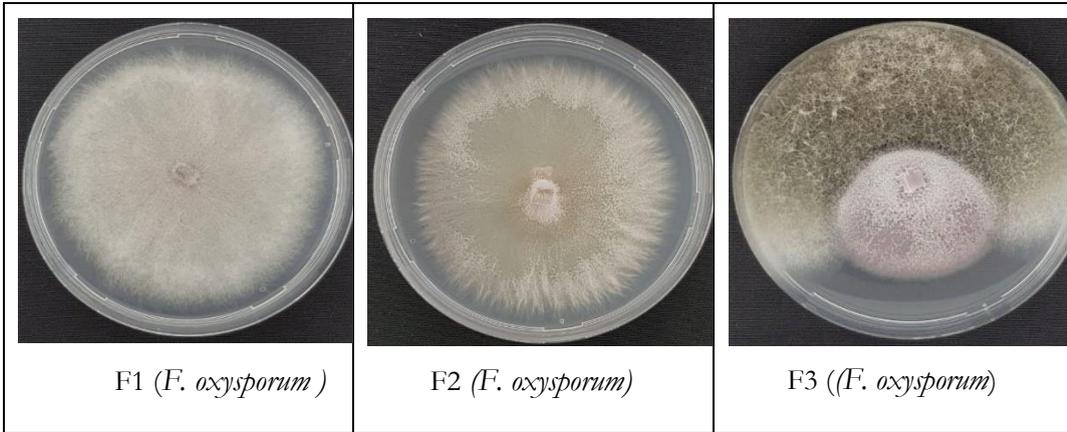
**Anexo A. Cepas de *Trichoderma***



Fuente: Autor

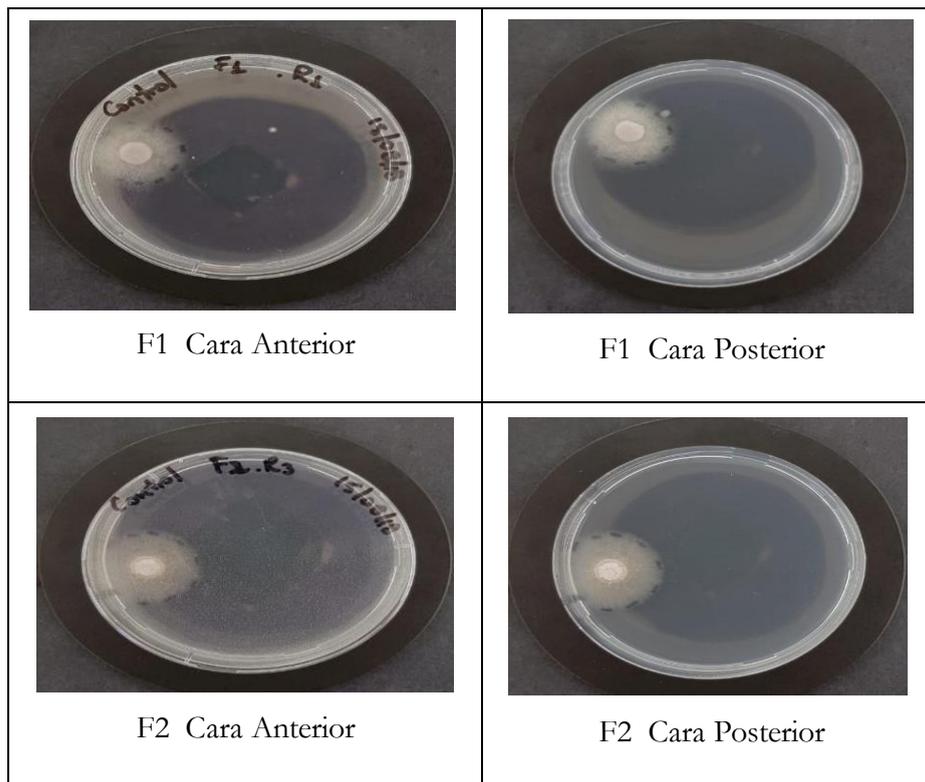
**Anexo B. Cepas *F. Oxysporum***

Código Asignado	Identificación
F1	EC-20-G-GM1
F2	EC-25-G-GM1
F3	EC-28-LR-GM1



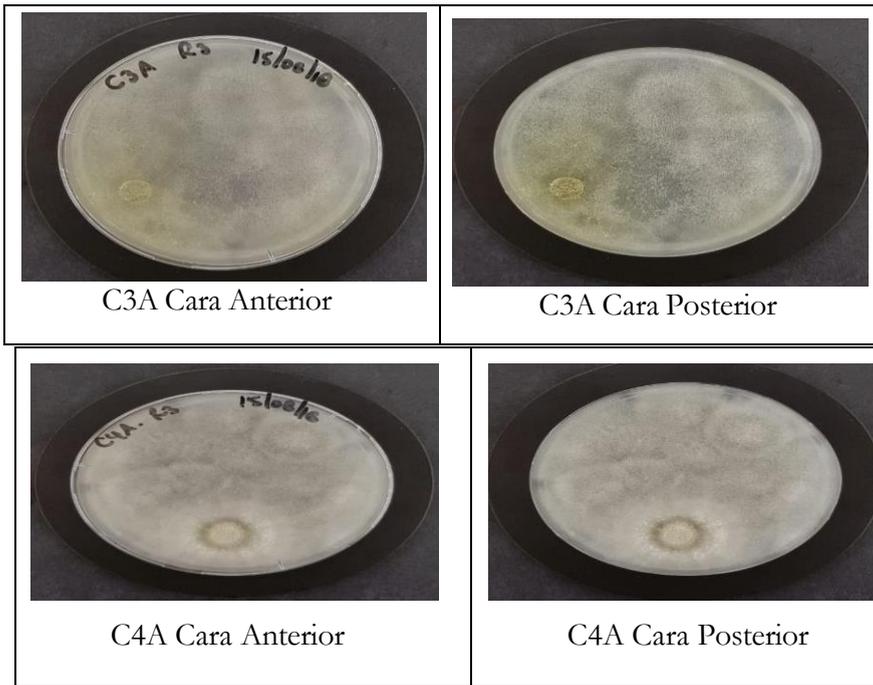
**Fuente:** Autor

## **Anexo C. Controles**

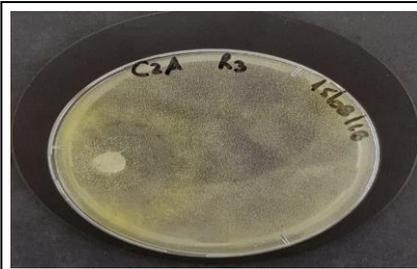


Fuente: Autor

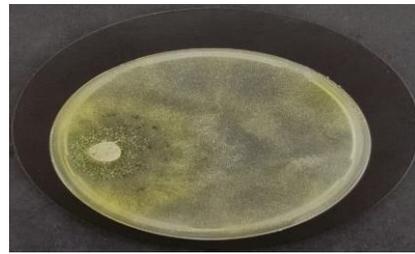
Aislados	Controles <i>Trichoderma</i> spp.
C4A	( <i>T. harzianum</i> )
C3A	( <i>Trichoderma</i> spp.)
C2A	( <i>T. reesei</i> )
C10	( <i>T. spirale</i> )



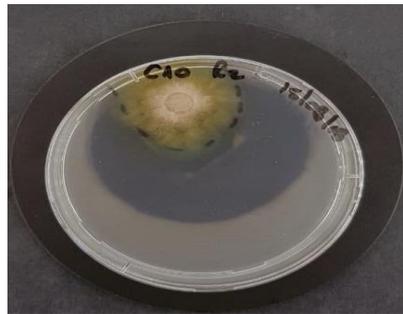
**Fuente:** Autor



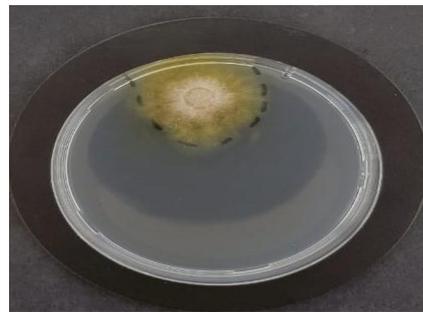
C2A Cara Anterior



C2A Cara Posterior

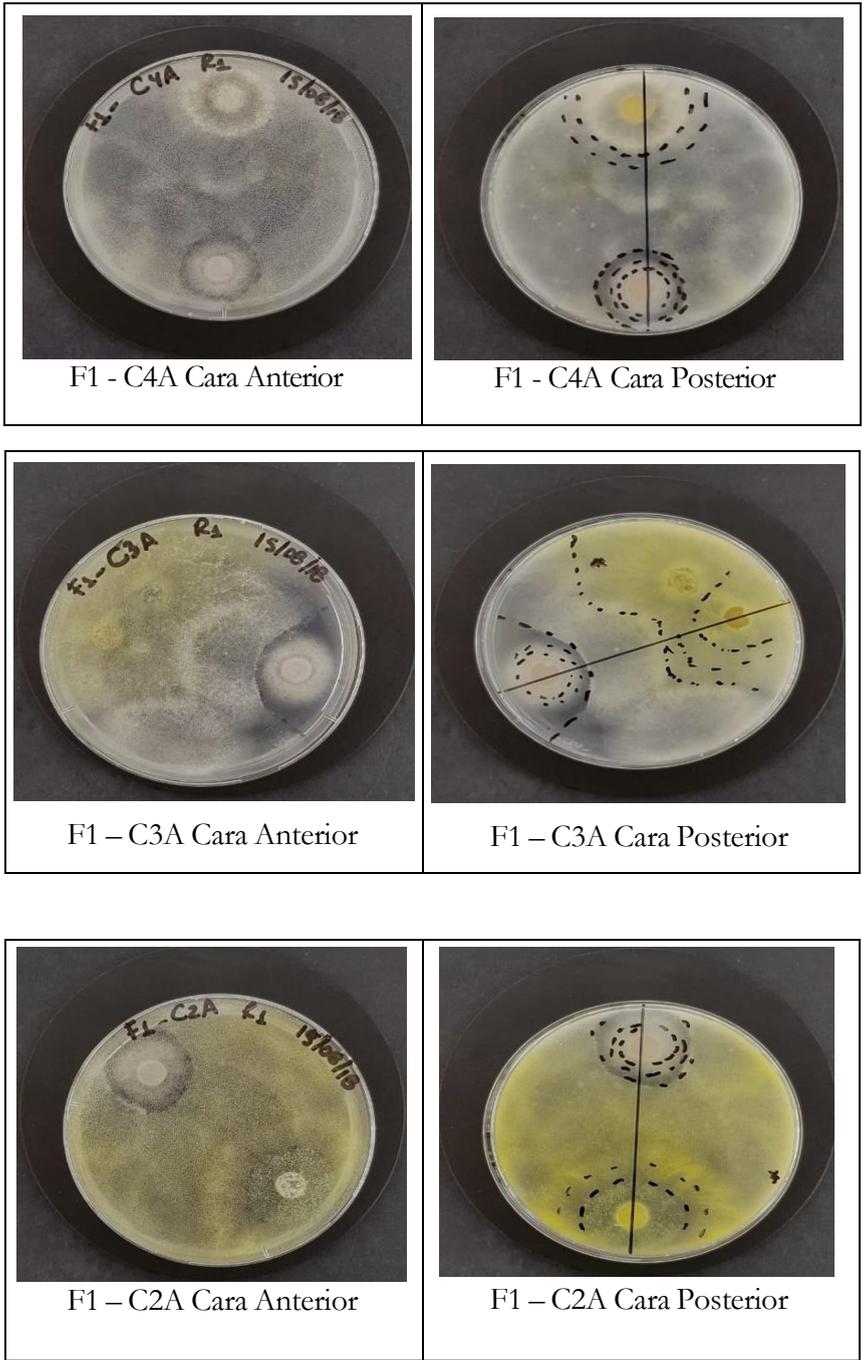


C10 Cara Anterior

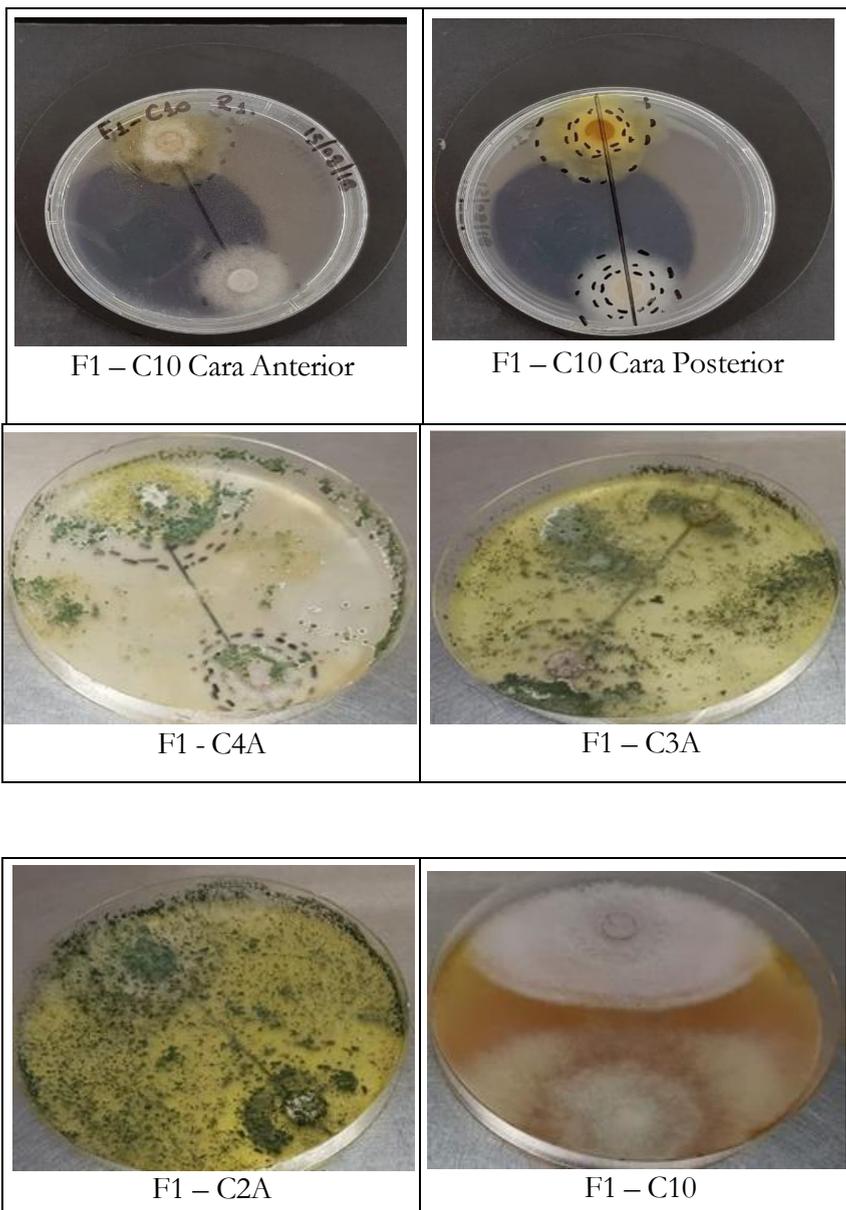


C10 Cara Posterior

## **Anexo D. Ensayos Duales**



Fuente: Autor



Fuente: Autor

## **Anexo E. Sinergismo**



F1- C2A Fungicidas Mancozeb



F1- C2A Fungicidas Propiconazol



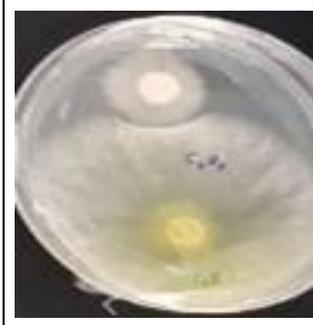
F1- C2A Fungicidas Clorotalonil



F1- C2A- Mancozeb



F1-C2A – Propiconazol



F1-C2A – Clorotalonil

Fuente: Autor

**Anexo F. Tabla S1**

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
1	1, 5-dihydroxy-3-hydroxymethyl-9, 10-anthraquinone	<i>T. harzianum Th-R16</i>	Antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
2	(22E,24R)-3b,5a-dihydroxy-ergosta-7,22-dien-6-one	<i>T. harzianum R5</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
3	(22E,24R)-5a,6a-epoxyergosta-8,22-diene-3,7-dio	<i>T. asperellum dl-34</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
4	(22E,24R)-7b,8b-epoxy-3b,5a,9a-trihydroxyergosta-22-en-6-one	<i>T. citrinoviride cf-27</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
5	(3'-hydroxybutan-20-yl)5-oxopyrrolidine-2-carboxylate	<i>T. atroviride G20-12</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
6	(3R)-5-oxolasiiodiplodin	<i>Trichoderma sp. 307</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
7	(3R)-de-o-methylasiiodiplodin	<i>Trichoderma sp. 307</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
8	(3R)-lasiiodiplodin	<i>Trichoderma sp. 307</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
9	(3R)-nordinone	<i>Trichoderma sp. 307</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
10	(3S)-6-oxo-de-o-methylasiiodiplodin	<i>Trichoderma sp. 307</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
11	(3S)-ozoroalide	<i>Trichoderma sp. 307</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
12	(3S,5R)-5-hydroxylasiiodiplodin	<i>Trichoderma sp. 307</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
13	(4E,8E)-1-o-(b-D-glucopyranosyl)-2-(2'-hydroxyl-(E)-3'-heptadecenoylamide)-3-hydroxyl-9-methyl-4,8-nonadecadiene	<i>Trichoderma sp. 09</i>	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
14	(4Z)-4-(Chloromethylene)-2-phenyl-1,3-oxazol-5(4H)-one	<i>T. afroharzianum PS</i>	Identified in extracts with antifungal activity	(Tchameni et al. 2020)
15	(7R)-1-hydroxy-3-p-menthen-9-oic acid	<i>T. asperellum cf44-2</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
16	(7S)-1-hydroxy-3-p-menthen-9-oic acid	<i>T. asperellum cf44-2</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
17	(9R,10R)-dihydro-harzianone	<i>Trichoderma sp. Xy24</i>	Cytotoxic	(Meng-Fei et al. 2019)
18	(E)-3-acetylbenzylbut-2-enoate	<i>Trichoderma sp. KK19L1</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
19	(E)-9-etheno-lasiiodiplodin	<i>Trichoderma sp. 307</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
20	(L)-4-OH-Pro-(L)-Leu	<i>T. asperellum dl-34</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
21	(L)-Pro-(L)-Leu	<i>T. asperellum dl-34</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
22	(R)-vertinolide	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
23	1-isopropyl-4a,8-dimethyl-spiro[4.5]dec-ene-3,7-diol	<i>Trichoderma sp. Xy24</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
24	1, 5-dihydroxy-3-hydroxymethyl-9	<i>T. Harzianum Th-R16</i>	Antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
25	1, 6-di-epi-koninginin	<i>T. koningiopsis strain (QA-3)</i>	Antifungal activity	(Kumari and Srividhya 2020)
26	1, 7-dihydroxy-3-hydroxymethyl-9, 10-anthraquinone	<i>T. Harzianum Th-R16</i>	Antimicrobial activity	(Kumari and Srividhya 2020)
27	1,2 Benzenedicarboxylic acid bis (2S-methyl heptyl) ester	<i>Trichoderma sp. Jmg-8.</i>	-	(Zhang et al. 2017)
28	1,2,4,4,6-pentamethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarbonitrile	<i>T. atroviride, T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
29	1,2-benzenedicarboxylic acid bis 2S-methyl heptyl) ester	<i>Trichoderma sp. Jmg-8</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
30	1,3,6-trihydroxy-8-methylantraquinone	<i>Trichoderma sp. SCSTO4100S</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
31	1,3-dione-5,5-dimethylcyclohexane	<i>T. atroviride</i> , <i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
32	1,3-Dioxolane,2-(3-bromo-5,5,5-trichloro-2,2-dimethylpentyl)	<i>T. asperellum</i> CCTCC-RW14	Extract with antifungal activities against <i>F. oxysporum</i>	(Saravanakumar et al. 2015)
33	1,3-Dioxolane-2-(1-hydroxyethyl)-methylate	<i>T. erimaceum</i> IT-58, <i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. Harzianum</i> P11	Antifungal activity	(Tchameni et al. 2020)
34	1,3-di-tert-butylbenzene	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadario et al. 2020)
35	1,6-diphenylhexane-1,3,4,6-tetrone*	<i>T. asperellum</i> CCTCC-RW14	Extract with antifungal activities against <i>F. oxysporum</i>	(Saravanakumar et al. 2015)
36	1,8-dihydroxy-3-methylanthraquinone	<i>T. Harzianum</i> T-4	-	(Meng-Fei et al. 2019)
37	10,11-dihydrocycloeretriol	<i>T. longibrachiatum</i> , YM311505	Antifungal activity	(Khan et al. 2020, Meng-Fei et al. 2019)
38	10,11-dihydroxy-cycloeretriol	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24	-	(Meng-Fei et al. 2019)
39	10-anthraquinone	<i>T. Harzianum</i> Th-R16	Antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
40	10-deacetylkoningiopsin D,	<i>T. koningiopsis</i> strain (QA-3)	Antifungal activity	(Kumari and Srividhya 2020)
41	11,16, 22-triacetoxy androst-4-ene-3,20-dione	<i>T. erimaceum</i> IT-58, <i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. afroharzianum</i> PS, <i>T. Harzianum</i> P11	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
42	11-residue lipopeptaibols	<i>T. koningiopsis</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
43	12-nor-11-acetoxylbisabol-3,6,7-triol	<i>T. asperellum</i> cf44-2	Antibacterial and antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
44	14-hydroxy CAF-603	<i>T. virens</i> Y13-3	-	(Meng-Fei et al. 2019)
45	14-hydroxy-trichoacorenol	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24	-	(Meng-Fei et al. 2019)
46	15,17,19-Nonacosatrienoic acid	<i>T. erimaceum</i> IT-58, <i>T. afroharzianum</i> PS	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
47	15-hydroxyacorenol	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
48	15-hydroxykoniginin	<i>T. koningiopsis</i> strain (QA-3)	Antifungal activity	(Kumari and Srividhya 2020)
49	17-Acetyl-16-hydroxy-10,17-dimethylgon-4,13-dien-3-one	<i>T. erimaceum</i> IT-58, <i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. afroharzianum</i> PS, <i>T. Harzianum</i> P11	Extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. myriofolium</i>	(Tchameni et al. 2020)
50	17-Ethylenedioxy-5,19-cycloandrost-6-en-3-one	<i>T. afroharzianum</i> PS	Extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. myriofolium</i>	(Tchameni et al. 2020)
51	1-Aminocyclopentanecarboxylic acid,N-ethoxycarbonyl-, heptyl ester*	<i>T. asperellum</i> CCTCC-RW14	Extract with antifungal activities against <i>F. oxysporum</i>	(Saravanakumar et al. 2015)
52	1-carbaalde)-6-methyl-2H-pyran-2,4(3H)-dione	<i>T. atroviride</i> S361	-	(Meng-Fei et al. 2019)
53	1-Heptanol	<i>T. harzianum</i> T-22	-	(Li et al. 2018)
54	1-Heptanol	<i>T. harzianum</i> T-22	-	(Li et al. 2018)
55	1-Hexanol	<i>T. virens</i> G-41, <i>T. harzianum</i> T-22	-	(Li et al. 2018)
56	1-Hexanol	<i>T. virens</i> G-41, <i>T. harzianum</i> T-22	-	(Li et al. 2018)
57	1-hydroxy-2,4-di-tert-butylbenzene	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadario et al. 2020)
58	1-hydroxy-3-methylanthraquinone	<i>T. Harzianum</i>	Antifungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Khan et al. 2020)
59	1-hydroxy-3-methylanthraquinone	<i>T. Harzianum</i> (T-4, T22, T39)	-	(Meng-Fei et al. 2019)
60	1-hydroxy-6-methyl-9,10-anthraquinone	<i>Trichoderma</i> sp. KK19L1	-	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	Trichoderma spp. (isolates)	Effect	Author
61	1-methyl-6-oxopyridine-3-carboxylic acid	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadio et al. 2020)
62	1-monoolein	<i>Trichoderma sp.</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
63	1-Octanol	<i>T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
64	1-Octanol	<i>T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
65	1-Octen-3-ol	<i>T. virens G-41</i> , <i>T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
66	1-Octen-3-ol	<i>T. virens G-41</i> , <i>T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
67	1-Octen-3-one	<i>T. virens G-41</i>	-	(Li et al. 2018)
68	1-Octen-3-one	<i>T. virens G-41</i>	-	(Li et al. 2018)
69	1-Pentanol	<i>T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
70	1-Pentanol	<i>T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
71	1-Pentenyl)-2H-pyran-2-one	<i>T. Harzianum</i>	Antifungal activity	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
72	1-phenyl-2-propanol	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadio et al. 2020)
73	1S,4S,5S)-8-hydroxymethyl-1-isopropyl-4-methylspiro[4.5]dec-8-en-7-one)	<i>T. Harzianum R5-1</i>	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
74	2-(4-methoxyphenyl)ethanol	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadio et al. 2020)
75	2(5H)-furanone	<i>T. Harzianum T-4</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
76	2,2-diphenyl-2H-1-benzopyran	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadio et al. 2020)
77	2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadio et al. 2020)
78	2,3,5-trimethyl-6-propylpyrazine	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadio et al. 2020)
79	2,3-butandione	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadio et al. 2020)
80	2,3-dimethyl-5-(1-propenyl)pyrazine	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadio et al. 2020)
81	2,4-dihydroxy-3,6-dimethylbenzaldehyde	<i>T. asperellum dl-34</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
82	2,4-dimethyl-3-acetylpyrrole	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadio et al. 2020)
83	2,4-dimethylbenzene-1,3,5-triol	<i>T. Harzianum R5</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
84	2,5-cyclohexadiene-1,4-dione-2,6-bis(1,1-dimethylethyl)	<i>Trichoderma sp. T-33</i>	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
85	2,5-dimethyl-7-hydroxy-chromone	<i>Trichoderma sp. SC51041009</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
86	2,6-Bis (1,1-dimethylethyl)-4-(1-oxopropyl) phenol	<i>T. erinaceum IT-58</i> , <i>T. gamsii IT-62</i> , <i>T. afroharzianum PS</i> , <i>T. Harzianum P11</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of P. m	(Tchameni et al. 2020)
87	2,6-Dimethyl-4-(methoxymethyl) phenol	<i>T. erinaceum IT-58</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of P. m	(Tchameni et al. 2020)
88	2-[(5-Chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxoisochroman-7-carbonyl)amino]-3-phenyl propionate	<i>T. Harzianum P11</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of P. m	(Tchameni et al. 2020)
89	2-[2-[2-Methoxyethoxy]ethoxy-1,3-dioxalane*	<i>T. asperellum CCTCC-RW14</i>	Extract with antifungal activities against F. oxysporum	(Saravanakumar et al. 2015)
90	22E,24R)-24-methylcholesta-5,22-dien-3b-ol	<i>T. Harzianum, T. Harzianum R5</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	Trichoderma spp. (isolates)	Effect	Author
91	22E,24R)-5a,8b-epidioxyergosta-6,22-dien-3-ol	<i>T. Harzianum dl-36</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
92	22E,24R)-ergosta-4,6,8,(14),22-tetraen- 3-one	<i>T. asperellum dl-34, T. citrinoviride cf-27</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
93	22E,24R)-ergosta-5,7,22-trien-3b-ol	<i>T. asperellum dl-34, T. citrinoviride cf-27, T. Harzianum dl-36</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
94	2460A	<i>T. Harzianum</i>	Anti-tumor	(Meng-Fei et al. 2019)
95	24-methylenecycloartanol	<i>T. citrinoviride cf-27</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
96	2â-hydroxy-1â-isopropyl-4â,8-dimethylspiro	(nd)	inhibitory effects on bacteria, fungi and yeast	(Kumari and Srividhya 2020)
97	2-anhydromevalonic acid	<i>T. longibrachiatum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
98	2-Bromo-1,3,5-triisopropylbenzene	<i>T. erinaceum IT-58, T. gamsii IT-62, T. Harzianum P11</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of P. my	(Tchameni et al. 2020)
99	2-Bromo-4,6-dimethylbenzamide	<i>T. afroharzianum P8</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of P. my	(Tchameni et al. 2020)
100	2-Chloroethyl isobutyrate of terephthalate	<i>T. erinaceum IT-58, T. Harzianum P11</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of P. my	(Tchameni et al. 2020)
101	2-enone-3hydroxy-5,5-dimethylcyclohex	<i>T. atroviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
102	2-Hexyldecanoic acid	<i>T. Harzianum</i>	anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
103	2-hydroxybutan-3-yl5'-(2"-hydroxy-N-20 00-oxobutan-30 00-yl)propanamido)butanoate	<i>T. atroviride G20-12</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
104	2-hydroxydiplopterol	<i>T. koningiopsis Y10-2</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
105	2-methyl acetate-1-butanol	<i>T. atroviride, T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
106	2-Methyl-1-propanol	<i>T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
107	2-Methyl-1-propanol	<i>T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
108	2-methyl-1-propanol	<i>T. atroviride, T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
109	2-methyl-3,5-dieethylpyrazine	<i>T. atroviride, T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
110	2-Myristynovyl pantetheine	<i>T. gamsii IT-62, T. Harzianum P11</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of P. my	(Tchameni et al. 2020)
111	2-Octadec-1-enoxyethyl tetradecanoate	<i>T. erinaceum IT-58</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of P. my	(Tchameni et al. 2020)
112	2-Octenoic acid*	<i>T. asperellum CCTCC-RW14</i>	Extract with antifungal activities against F. oxysporum	(Saravanakumar et al. 2015)
113	2-pentyl furan	<i>T. atroviride, T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
114	2-phenethyl acetate	<i>T. atroviride, T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
115	2-phenylethanol	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
116	2-Phenylethyl alcohol	<i>T. harzianum T-22</i>	Antifungal activity	(Li et al. 2018)
117	2-Phenylethyl alcohol	<i>T. harzianum T-22</i>	Antifungal activity	(Li et al. 2018)
118	3-(3-oxocyclopent-1-enyl)propanoic	<i>Trichoderma sp. YLF-3</i>	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
119	3-(Benzlyoxy) benzonitrile	<i>T. gamsii IT-62</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of P. my	(Tchameni et al. 2020)
120	3, 4 dihydroxycarotane	(nd)	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
121	3,5,9-trihydroxyergosta-7,22-dien-6-one	<i>T. asperellum</i> IMI 393899, <i>T. atroviride</i> TS	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
122	3,6-dibenzylpiperazine-2,5-dione	<i>T. reesei</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
123	3-acetyl-6-methyl-2H-pyran-2,4(3H)-dione	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
124	3b,5a,6b-trihydroxyergosta-7,22-diene	<i>T. asperellum</i> dl-34, <i>T. Harzianum</i> R5	-	(Meng-Fei et al. 2019)
125	3b,5a,9a-trihydroxyergosta-7,22-dien-6-one	<i>T. asperellum</i> dl-34, <i>Trichoderma</i> sp. YM311505, <i>T. Harzianum</i> dl-36	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
126	3b,5a-dihydroxy-6b-methoxyergosta-7,22-diene	<i>T. asperellum</i> dl-34	-	(Meng-Fei et al. 2019)
127	3-benzyl-8-hydroxyl-pyrroloperazine-2,5-dione	<i>T. reesei</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
128	3b-hydroxyergosta-8,24(28)-dien-7-one	<i>T. Harzianum</i> R5	-	(Meng-Fei et al. 2019)
129	3-dimethylamino-5-hydroxy-5-vinyl-2-cyclopenten-1-one	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
130	3-ethyl-2-cyclopenten-1-one	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadiano et al. 2020)
131	3-hydroxy-5-(4-hydroxybenzyl)dihydrofuran-2(3H)-one	<i>T. atroviride</i> G20-12	-	(Meng-Fei et al. 2019)
132	3-hydroxymethyl-6,8-dimethoxycoumarin	<i>T. Harzianum</i> QTYC77	-	(Zhang et al. 2020)
133	3-Hydroxyspirost-8-en-11-one	<i>T. erinaceum</i> IT-58, <i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. afroharzianum</i> P8, <i>T. Harzianum</i> P11	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
134	3-hydroxytrichodenone C	<i>T. asperellum</i> cf44-2	Antibacterial and antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
135	3-indol acetic acid	<i>T. Harzianum</i> R10	-	(Meng-Fei et al. 2019)
136	3-isobutyl-8-hydroxyl-pyrroloperazine-2,5-dione	<i>T. reesei</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
137	3-methyl acetate-1-butanol	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadiano et al. 2020)
138	3-Methyl-1-butanol	<i>T. harzianum</i> T-22	-	(Li et al. 2018)
139	3-Methyl-1-butanol	<i>T. harzianum</i> T-22	-	(Li et al. 2018)
140	3-methyl-1-butanol	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadiano et al. 2020)
141	3-Methylcyclopentanol	<i>T. virens</i> G-41	-	(Li et al. 2018)
142	3-Methylcyclopentanol	<i>T. virens</i> G-41	-	(Li et al. 2018)
143	3-methylhexyl isothiocyanate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadiano et al. 2020)
144	3-Octanone	<i>T. virens</i> G-41, <i>T. harzianum</i> T-22	Antifungal activity	(Li et al. 2018)
145	3-Octanone	<i>T. virens</i> G-41, <i>T. harzianum</i> T-22	Antifungal activity	(Li et al. 2018)
146	3-o-methylviridicatin	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
147	3R)-5-oxo-de-o-methylsiodiplodin	<i>Trichoderma</i> sp. 307	Enzyme inhibitor	(Meng-Fei et al. 2019)
148	3R)-7-oxo-de-o-methylsiodiplodin	<i>Trichoderma</i> sp. 307	-	(Meng-Fei et al. 2019)
149	3R,4R)-4-hydroxy-de-o-methylsiodiplodin	<i>Trichoderma</i> sp. 307	-	(Meng-Fei et al. 2019)
150	3R,5R)-5-hydroxy-de-o-methylsiodiplodin	<i>Trichoderma</i> sp. 307	-	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
151	3R,6R)-6-hydroxy-de-o-methylasiodiplodin	<i>Trichoderma</i> sp. 307	-	(Meng-Fei et al. 2019)
152	3R,7R)-7-hydroxy-de-o-methylasiodiplodin	<i>Trichoderma</i> sp. 307	Enzyme inhibitoring	(Meng-Fei et al. 2019)
153	4'-Decyloxybiphenyl-4-carboxylic Acid	<i>T. Harzianum</i>	Anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
154	40-(4,5-dimethyl-1,3-dioxolan-2-yl)methylphenol	<i>T. atroviride</i> G20-12	-	(Meng-Fei et al. 2019)
155	4'Epialtenuene	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8.	-	(Zhang et al. 2017, Meng-Fei et al. 2019)
156	4H-1,3-dioxin-4-one-2,3,6-trimethyl	<i>T. atroviride</i>	Antibacterial activity, cytotoxic.	(Meng-Fei et al. 2019)
157	4-hydroxyphenethyl alcohol	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
158	4-hydroxyphenylacetate	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
159	4-hydroxyphenylethanol	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
160	4-oxazolepropanoic acid	<i>T. asperellum</i> cf44-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
161	4-Pyridyl di thiocarbamic acid	<i>T. Harzianum</i>	Anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
162	5,8-epi di oxergosta-6,22-diem-3b-ol	<i>Trichoderma</i> sp	-	(Meng-Fei et al. 2019)
163	5,6,6-trimethyl-3,4-undecadiene-2,10-dione	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
164	5,6,7,8-tetrahydro-2-methyl-4H-chromen-4-one	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
165	5,6-dihydro-4-methyl-2H-pyran-2-one	<i>T. Harzianum</i> R5-1	-	(Meng-Fei et al. 2019)
166	5,7-dihydroxy-2,3-dimethyl chromone	<i>T. Harzianum</i> R5	-	(Meng-Fei et al. 2019)
167	5,7-dihydroxy-3-methyl-2,2-oxopropyl)naphthalene-1,4-dione	<i>Trichoderma</i> sp. SCSIO41005	-	(Meng-Fei et al. 2019)
168	5a,6a-epoxyergosta-8(14),22-diene-3,7a-diol	<i>Trichoderma</i> sp. YM311505	-	(Meng-Fei et al. 2019)
169	5a,8a-epi di oxergosta-6,9(11),22-trien-3b-ol	<i>T. asperellum</i> dl-34, <i>T. Harzianum</i> (R5, dl-36)	-	(Meng-Fei et al. 2019)
170	5-Androstenedione	<i>T. erinaceum</i> IT-58	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
171	5-demethoxy-5-one-6,28-anhydro-25-ethyl-4-methyl-13-chloro-oxime*	<i>T. asperellum</i> CCTCC-RW14	Extract with antifungal activities against <i>F. oxysporum</i>	(Saravanakumar et al. 2015)
172	5-hydroxy-2-hydroxymethyl-3-methyl-7-methoxychromone	<i>T. Harzianum</i> R10	-	(Meng-Fei et al. 2019)
173	5-hydroxy-3-hydroxymethyl-2-methyl-7-methoxychromone	<i>T. citrinoviride</i> cf-27, <i>Trichoderma</i> sp. KK19L1	-	(Meng-Fei et al. 2019)
174	5-hydroxyvertinolide	<i>T. longibrachiatum</i> Rifai, <i>T. virens</i>	Antagonism	(Meng-Fei et al. 2019, Contreras-Cornejo et al. 2016)
175	5-Methyl-3-undecene	<i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. Harzianum</i> P11	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
176	5'-o-acetyluracil nucleoside	<i>T. Harzianum</i> R5	-	(Meng-Fei et al. 2019)
177	5R)5-hydroxy-3-[(methoxycarbonyl)-amino]-5-vinyl-2-cyclopenten-1-one	<i>T. atroviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
178	6-(4-oxopentyl)-2H-pyran-2-one	<i>T. koningii</i> T-8	Antifungal	(Meng-Fei et al. 2019)
179	6,7-dihydro-2-trans-farnesol	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
180	6,7-dimethyl-1,2,3,5,8,8a-hexahydronaphthalene	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
181	6-amyl alpha-pyrone	<i>koningsopsis Y10-2</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
182	6-Dimethylamino-4-ketohexanoic acid*	<i>T. asperellum CCTCC-RW14</i>	Extract with antifungal activities against <i>F. oxysporum</i>	(Saravanakumar et al. 2015)
183	6-methyl-1,3,8-trihydroxyanthraquinone	<i>T. Harzianum</i>	Anti fungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Khan et al. 2020)
184	6-Pentyl-2H-pyran-2-one	<i>T. atroviride, T. koningii, T. viridescens TS0404, T. viride</i>	Antifungal, antinematode and plant growth-promoting activities	(Contreras-Cornejo et al. 2016, Meng-Fei et al. 2019)
185	6-pentyl-a-pyrone	<i>T. atroviride UST1, T. atroviride UST2, T. asperellum, T. koningii T-8, T. koningii T-11, T. erimaceum IT-58, T. gamsii IT-62, T. Harzianum (GV41, M10, T22, TH1)</i>	Improve aromatic syntheses. Anti fungal activities ( <i>F. oxysporum</i> ). Antibacterial activity. Increased number of fruits.	(Tchameni et al. 2020, Stracquadiano et al. 2020, Meng-Fei et al. 2019, Lombardi et al. 2020, Dini et al. 2021, Vinale et al. 2014, Kumari and Srividhya 2020, Khan et al. 2020, Meng-Fei et al. 2019)
187	6R)-6-(para-hydroxybenzyl)-dimethyl-3,6-bis(methylthio)piperazine-2,5-dione	<i>T. virens Y13-3</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
188	6β-Hydroxyfluoxymesterone	<i>T. erimaceum IT-58, T. gamsii IT-62, T. afroharzianum PS, T. Harzianum P11</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
189	7-acetyl-1,3,6-trihydroxyanthracene-9,10-dione	<i>Trichoderma sp. SC/SIO41006</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
190	7-b-hydroxy CAF-603	<i>T. virens Y13-3</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
191	7-chloro-1-methyl-2-oxo-5-phenyl-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepin-3-yle	<i>T. Harzianum P11</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
192	7-hydroxy-2-(20S-hydroxypropyl)-5-methylchromone	<i>Trichoderma sp. SC/SIO41010</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
193	7-hydroxy-4,6-dimethyl phtalide	<i>Trichoderma sp. YM311506</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
194	7-methoxy-4,6-dimethyl phtalide	<i>Trichoderma sp. YM311505</i>	Antibacterial and antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
195	7-O-methylkoningini n D	<i>T. koningii</i>	Anti fungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
196	8,9-dihydroxy-megastigmatrone	<i>T. reesei</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
197	8-dihydroxy-3-methyl anthraquinone	<i>T. Harzianum</i>	Anti fungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Khan et al. 2020)
198	a-acetylorcinol	<i>Trichoderma sp. Jing-8</i>	Growth inhibiting	(Meng-Fei et al. 2019, Zhang et al. 2017)
199	Abscisic acid (ABA)	<i>T. atroviride</i>	Stimulates growth in plants	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
200	Acetic acid	<i>T. virens G-41, T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
201	Acetic acid	<i>T. virens G-41, T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
202	Acetoin	<i>T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
203	Acetoin	<i>T. harzianum T-22</i>	-	(Li et al. 2018)
204	Acid-2-Chloro-5-sulfoaniline	<i>T. afroharzianum PS</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
205	Acide 2-(3-acetoxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,4,5,6,7,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)propanoic	<i>T. erimaceum IT-58, T. gamsii IT-62, T. afroharzianum PS, T. Harzianum P11</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
206	Adenine nucleoside	<i>T. asperellum IMI 393899, T. atroviride TS, T. asperellum dl-34</i>	Anti fungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
207	Adenosine	<i>Trichoderma sp. SC/SIO41012</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
208	a-Himachalene	<i>T. atroviride, T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadiano et al. 2020)
209	Alamethicin	<i>T. viride</i>	Induces plant defense	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
210	Alamethicin F50	<i>koningsopsis YIM, PH30003</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
211	Alamethicin II	<i>koningiopsis</i> YIM, PH30004	-	(Meng-Fei et al. 2019)
212	Alternariol	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8.	DPPH radical scavenging activities	(Zhang et al. 2017)
213	Altechromone	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8.	-	(Zhang et al. 2017)
214	Altechromone A	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8	-	(Meng-Fei et al. 2019)
215	Altenuene	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8	-	(Meng-Fei et al. 2019, Zhang et al. 2017)
216	Alternariol	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8	DPPH-radical-scavenging	(Meng-Fei et al. 2019)
217	Alternariol 1'-hydroxy-9-methyl ether	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8.	Antibacterial activity, growth inhibiting, Antibacterial, DPPH	(Zhang et al. 2017, Meng-Fei et al. 2019)
218	Alternariol 9-methyl ether	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8	-	(Meng-Fei et al. 2019, Zhang et al. 2017)
219	a-palmitoyl-b-linoleoyl-a'-linoleoyl glycerol	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8.	-	(Zhang et al. 2017, Meng-Fei et al. 2019)
220	a-phenylethyl butyrate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
221	Apigenin 7-xyloside	<i>T. Harzianum</i>	Anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
222	Apionic acid	<i>T. Harzianum</i>	Anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
223	Aromadendrene	<i>T. erinaceum</i> IT-58	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
224	Ascotrichic acid	<i>T. atroviride</i> S361	-	(Meng-Fei et al. 2019)
225	a-Sesquiphellandrene	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
226	Aspereline A	<i>T. asperellum</i> IMI 393899, <i>T. atroviride</i> TS	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
227	Aspereline C	<i>koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
228	Aspereline D	<i>koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
229	Aspereline E	<i>T. asperellum</i> IMI 393899, <i>T. atroviride</i> TS, <i>koningiopsis</i> Y10-2	Cytotoxic effects Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
230	Aspereline F	<i>koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
231	Aspereline G	<i>koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
232	Aspereline H	<i>T. asperellum</i> IMI 393899, <i>T. atroviride</i> TS, <i>koningiopsis</i> Y10-2	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
233	Aspinolide C	<i>T. arundinaceum</i>	Antibacterial effect. induction of plant resistance against phyto	(Khan et al. 2020)
234	Aspochalasin D	<i>T. gamsii</i>	Cytotoxic	(Meng-Fei et al. 2019)
235	Aspochalasin I	<i>T. gamsii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
236	Aspochalasin J	<i>T. gamsii</i>	Cytotoxic	(Meng-Fei et al. 2019)
237	Atrichodermone A	<i>T. atroviride</i>	Cytotoxic. Anti-inflammatory	(Meng-Fei et al. 2019)
238	Atrichodermone B	<i>T. asperellum</i> IMI 393899, <i>T. atroviride</i> TS	Antifungal activity	
239	Atrichodermone B	<i>T. atroviride</i>	Cytotoxic, Anti-inflammatory	(Meng-Fei et al. 2019)
240	Atrichodermone C		Antifungal activity	

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
241	Atrichodermone C	<i>T. asperellum</i> IMI 393899, <i>T. atroviride</i> TS	Cytotoxic. Anti-inflammatory.	(Meng-Fei et al. 2019)
242	Atrichodermone D	<i>T. atroviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
243	Atroviridetide	<i>T. atroviride</i> G20-12	-	(Meng-Fei et al. 2019)
244	Atroviridin J	<i>koningiopsis</i> YIM, PH30005	-	(Meng-Fei et al. 2019)
245	Azaphilone D (1)	<i>T. Harzianum</i> QTYC77	-	(Zhang et al. 2020)
246	Azaphilone E (2)	<i>T. Harzianum</i> QTYC77	-	(Zhang et al. 2020)
247	a-Zingiberene	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
248	Benzaldehyde	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
249	Benzeneacetaldehyde	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
250	Benzyl alcohol	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
251	Beta-sitosterol	<i>T. asperellum</i> IMI 393899, <i>T. atroviride</i> TS	Antifungal activity	
252	Bisabolan-1,10,11-triol	<i>T. asperellum</i> cf44-1	Antibacterial and antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
253	Bisdethiobis(methylthio)-dehydrogliotoxin	<i>T. virens</i> Y13-3	-	(Meng-Fei et al. 2019)
254	Bislongiquinolide	<i>T. longibrachiatum</i> Rifai, <i>T. saturnisporum</i> , <i>T. viride</i>	Antagonism, Antibacterial	(Meng-Fei et al. 2019)
255	Bisvertinol	<i>T. citrinoviride</i> , <i>T. viride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
256	Bisvertinolone	<i>T. saturnisporum</i> , <i>T. reseei</i> ZC121	Antibacterial activity	(Yang et al. 2020, Meng-Fei et al. 2019)
257	b-phenylethyl formate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
258	b-sitosterol	<i>T. asperellum</i> di-34, <i>T. longibrachiatum</i> , <i>T. Harzianum</i> T-4	-	(Meng-Fei et al. 2019)
259	Butyl adipate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
260	Butyl isobutyrate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
261	Butylated hydroxytoluene	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
262	CAF-603	<i>T. virens</i> Y13-3	-	(Meng-Fei et al. 2019)
263	Campesterol	<i>Trichoderma</i> sp. YM311505	-	(Meng-Fei et al. 2019)
264	Catenioblin C	<i>T. longibrachiatum</i> , <i>T. atroviride</i> S361, <i>T. longibrachiatum</i> , YM311505	Antifungal activity	(Khan et al. 2020, Meng-Fei et al. 2019)
265	Cedrene	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
266	Cellulase	<i>T. reseei</i> ZC121, <i>T. erinaceum</i> IT-58, <i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. afroharzianum</i> (PS), <i>T. reseei</i> , <i>T. Harzianum</i> P11	Suppression of mycelial growth, Root colonization	(Tchameni et al. 2020, Contreras-Cornejo et al. 2016)
267	Ceramide	<i>T. koningi</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
268	Cerebroside A	<i>T. saturnisporum</i>	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
269	Cerebroside C	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8	-	(Meng-Fei et al. 2019, Zhang et al. 2017)
270	Cerebroside D	<i>Trichoderma</i> sp. TA26-28T, <i>saturnisporum</i>	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
271	Cerevisterol	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8, <i>T. longibrachiatum</i>	-	(Zhang et al. 2017, Meng-Fei et al. 2019)
272	Cerinolactone	<i>T. cerinum</i>	Antifungal activity	(Virale et al. 2014, Khan et al. 2020)
273	Chitinase	<i>T. Harzianum</i>	Antifungal activity, suppression of mycelial growth.	
274	Cholest-4-ene-3-ol	<i>Trichoderma</i> sp. 09	-	(Meng-Fei et al. 2019)
275	Cholesta-7,22-diene-3b,5a,6b-triol	<i>Trichoderma</i> sp. T-62, <i>T. afroharzianum</i> P8, <i>T. Harzianum</i> P11	Enzyme inhibiting, identified in extracts that inhibited the my	(Meng-Fei et al. 2019, Tchameni et al. 2020)
276	Chromone	<i>T. virens</i> Y13-3	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
277	Chrysophanol	<i>T. aureoviride</i> , <i>Trichoderma</i> sp. TA26-28, <i>Trichoderma</i> sp. YM311505, <i>T. viride</i> , <i>T. Harzianum</i> (Th-R16, ETS-323)	Antimicrobial activities, stimulates expression defense-related	(Kumari and Srividhya 2020, Meng-Fei et al. 2019, Contreras-Cornejo et al. 2016, Liu et al. 2016)
278	Cinnamic acid		-	(Meng-Fei et al. 2019)
279	cis- and trans- $\beta$ -Ocimene	<i>T. virens</i>	Induces plant defense	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
280	cis-4-hydroxy-6-deoxyscytalone	<i>T. asperellum</i> dl-34	-	(Meng-Fei et al. 2019)
281	Citrioviric acid	<i>T. citrinoviride</i>	Cytotoxic	(Meng-Fei et al. 2019)
282	Citrostadienol	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	-	(Meng-Fei et al. 2019)
283	Coprogen B	<i>Trichoderma</i> spp.	Fe-chelated, can be available to plants	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
284	Cremenolide	<i>T. cremeum</i>	Antifungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Khan et al. 2020, Meng-Fei et al. 2019)
285	Cyclo-(4-hydroxyl-S-Pro-S-Leu)	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
286	Cyclo-(4-methyl-R-Pro-S-Nva)	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
287	Cyclo-(Ile-Pro)	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
288	Cyclo-(Leu-Pro)	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
289	Cyclo-(L-Pro-L-Leu)	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
290	Cyclo-(Phe-Pro)	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
291	Cyclo-(R-Pro-Gly)	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
292	Cyclo-(R-Pro-R-Ala)	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
293	Cyclo-(R-Pro-R-Leu)	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
294	Cyclo-(R-Pro-R-Phe)	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
295	Cyclo-(S-Pro-R-Val)	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
296	Cyclocaulenol	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	-	(Meng-Fei et al. 2019)
297	Cycloneodiol oxide	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2, <i>T. Harzianum</i> R5-1	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
298	Cyclonerodiol	<i>T. citrinoviride</i> cf-27, <i>Trichoderma</i> sp. Xy24, <i>T. koningiopsis</i> Y10-2, <i>T. koningii</i> , <i>T. reesei</i> , <i>T. Harzianum</i> R5-1	Positive effect on plant development. Antibacterial, antifungal	(Takahiro et al. 2013, Meng-Fei et al. 2019, Contreras-Cornejo et al. 2016)
299	Cyclonerodiol B	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24	Anti-inflammatory	(Meng-Fei et al. 2019)
300	Cyclonerodiol oxide	<i>T. polysporum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
301	Cyclonerotriol	<i>Trichoderma</i> sp. SCSIO41011, <i>T. koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
302	Cyclophenol	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
303	Cyclo-trans-4-OH-(D)-Pro-(D)-Phe	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
304	Cytosporone S	<i>T. Harzianum</i>	Antibacterial and antifungal activity	(Takahiro et al. 2013)
305	Daidzein	<i>Trichoderma</i> sp. YM311505	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
306	Dec-8-en-7-one, 1 $\alpha$ -isopropyl-4 $\alpha$ ,8-dimethylspiro	(nd)	Antifungal activity	
307	Dechlorotrichodenone C	<i>T. asperellum</i> cf44-2	Antibacterial and antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
308	Dehydroxymethylbis(dethio)methylthiogliotoxin	<i>T. virens</i> Y13-3	-	(Meng-Fei et al. 2019)
309	Demethylcisterol A3	<i>T. virens</i> Y13-3, <i>T. Harzianum</i> RS-1	-	(Meng-Fei et al. 2019)
310	Demethylsorbicillin	<i>Trichoderma</i> sp. USF-2690	-	(Meng-Fei et al. 2019)
311	Dermadin (U-21, 963)	<i>T. koningii</i> , <i>T. viride</i>	Antimicrobial activity	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
312	Dermadine	<i>T. erinaceum</i> IT-58, <i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. Harzianum</i> P11	Antibacterial and antifungal activity	(Tchameni et al. 2020, Vinale et al. 2014)
313	Dethio)bis(methylthio)gliotoxin	<i>T. virens</i> Y13-3	-	(Meng-Fei et al. 2019)
314	Deydro-harzianolide	<i>T. Harzianum</i>	Antifungal activity	(Vinale et al. 2014)
315	Dibutyl phthalate	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	-	(Meng-Fei et al. 2019)
316	Dihydrocitrinone	<i>T. asperellum</i> dl-34	-	(Meng-Fei et al. 2019)
317	Dihydrocucurbitacin	<i>T. gamsii</i> IT-62	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
318	Dimethyl gliotoxin	<i>T. virens</i> ITC-4777	-	(Meng-Fei et al. 2019)
319	Echinuline	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	Antimicrobial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
320	Emodin	<i>T. Harzianum</i> Th-R16	Antimicrobial activity	(Kumari and Srividhya 2020)
321	Endo- $\beta$ -1, 3-Glucanases	<i>T. Harzianum</i>	Lysis of cell wall during mycoparasitism	(Kumari and Srividhya 2020)
322	Endochitinases	<i>T. Harzianum</i>	Lysis of cell wall during mycoparasitism	(Kumari and Srividhya 2020)
323	Endopolygalacturonase	<i>T. Harzianum</i>	Root colonization	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
324	Ent-koninginin A	<i>T. koningiopsis</i> strain (Q4-3)	Antifungal activity	(Kumari and Srividhya 2020)
325	Epicycloneodiol oxide	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2, <i>T. polysporum</i> , <i>T. Harzianum</i> RS-1	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
326	Ep11	<i>T. atroviride</i>	Induces plant defense	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
327	Ergokonin A	<i>T. longibrachiatum</i> , <i>T. koningii</i> , <i>T. viride</i>	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019, Contreras-Cornejo et al. 2016)
328	Ergokonin B	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24	-	(Meng-Fei et al. 2019)
329	Ergosta-7,22-dien-3b,5a,6b-triol	<i>T. Harzianum</i> dl-36	-	(Meng-Fei et al. 2019)
330	Ergosta-7,22-dien-3b-ol		-	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
331	Ergosta-7,22-dien-3-ol	<i>T. asperellum</i> IMI 393899, <i>T. atroviride</i> TS, <i>T. asperellum</i> dl-34	cytotoxic effects Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
332	Ergosterol	<i>T. longibrachiatum</i> , <i>Trichoderma</i> sp. YM311505, <i>Trichoderma</i> sp. Xy24, <i>Trichoderma</i> sp. Jing-8., <i>T. Harzianum</i> T-4	-	(Meng-Fei et al. 2019, Zhang et al. 2017)
333	Ergosterol endoperoxide	<i>T. asperellum</i> dl-34, <i>T. citrinoviride</i> cf-27, <i>T. longibrachiatum</i> , <i>T. Harzianum</i> R5	-	(Meng-Fei et al. 2019)
334	Ethanol	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
335	Ethyl 3-acetoxybutanoate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
336	Ethyl acetate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
337	Ethyl benzeneacetate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
338	Ethyl b-hydroxybutyrate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
339	Ethyl iso-allocholate	<i>T. erinaceum</i> IT-58, <i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. afroharzianum</i> PS, <i>T. Harzianum</i> P11	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. my</i>	(Tchameni et al. 2020)
340	Ethyl isobutyrate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
341	Ethylene (ET)	<i>T. longibrachiatum</i>	Stimulates growth in plants	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
342	Euphorbol	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	-	(Meng-Fei et al. 2019)
343	Exo- $\beta$ -1, 3-Glucanases	<i>T. Harzianum</i>	Lysis of cell wall during mycoparasitism	(Kumari and Srividhya 2020)
344	Exochitinases	<i>T. Harzianum</i>	Lysis of cell wall during mycoparasitism	(Kumari and Srividhya 2020)
345	Fleophilone	<i>T. Harzianum</i>	antifungal activity	(Khan et al. 2020)
346	Formyl-5-(methoxymethyl)-1H-pyrrol-1-yl)butanoic acid	<i>T. atroviride</i> S361	-	(Meng-Fei et al. 2019)
347	Fructigenine A	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	Antimicrobial	(Meng-Fei et al. 2019)
348	Furancarboxylic acid	<i>T. viride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
349	Fusarinine C	<i>Trichoderma</i> spp.	Fe-chelated, can be available to plants	(Contreras-Cornejo et al. 2016, Damodaran et al. 2020)
350	g-decanolactone	<i>T. koningii</i> T-8	-	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
351	Gliotoxin	<i>T. hamatum</i> , <i>T. viride</i> , <i>T. erinaceum</i> IT-58, <i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. afroharzianum</i> P8, <i>T. virens</i> ITC-4777, <i>T. Harzianum</i> P11	Antiviral, antibacterial, wide spectrum antifungal and immuno-	(Kumari and Srividhya 2020, Khan et al. 2020, Tchameni et al. 2020, Contreras-Cornejo et al. 2016, Meng-Fei et al. 2019)
352	Gliovirin	<i>T. virens</i>	Antimicrobial, inhibitory effect against Oomycetes	(Kumari and Srividhya 2020, Khan et al. 2020, Contreras-Cornejo et al. 2016)
353	Glu(OMe)18-alamethicin F50	<i>T. koningiopsis</i>	Anti-tumor	(Meng-Fei et al. 2019)
354	Glucaric acid lactone	<i>T. Harzianum</i>	anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
355	Glutaryl-CoA	<i>T. Harzianum</i>	anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
356	Harzialactone	<i>T. afroharzianum</i> P8, <i>T. Harzianum</i> P11	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. mycelium</i>	(Tchameni et al. 2020)
357	Harzialactone A	<i>T. reesei</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
358	Harzianidione	<i>T. asperellum</i> dl-34, <i>T. koningiopsis</i> Y10-3	Nematicidal	(Kumari and Srividhya 2020, Meng-Fei et al. 2019)
359	Harzianelactone	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24	-	(Meng-Fei et al. 2019)
360	Harzianic acid	<i>Trichoderma</i> sp., <i>T. afroharzianum</i> P8, <i>T. arundinaceum</i> , <i>T. Harzianum</i> (M10, P11, GV41, T22, TH1, KV906)	Siderophore. Positive effect on plant development. Modify plant	(Meng-Fei et al. 2019, Contreras-Cornejo et al. 2016, Tchameni et al. 2020, Dini et al. 2021, Vinale et al. 2014, Lombardi et al. 2020, Takahiro et al. 2013, Khan et al. 2020, Manganiello et al. 2018)
361	Harzianolide	<i>T. citrinoviride</i> cf-27, <i>T. Harzianum</i> (P11, T22, T39, dl-36)	antibacterial and antifungal activity. Positive effect on plant develop	(Takahiro et al. 2013, Khan et al. 2020, Meng-Fei et al. 2019, Tchameni et al. 2020), Vinale et al. 2014)
362	Harzianone	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24, <i>T. Harzianum</i> QTYC77	-	(Meng-Fei et al. 2019, Zhang et al. 2020)
363	Harzianopyridone	<i>T. Harzianum</i> (T-4, T22, T39)	Positive effect on plant development. Antifungal activity. Poter	(Meng-Fei et al. 2019, Takahiro et al. 2013, Khan et al. 2020, Vinale et al. 2014, Contreras-Cornejo et al. 2016)
364	Harzianumnones A	<i>T. Harzianum</i>	antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
365	Harzianumnones A	<i>T. Harzianum</i> Th-R16	antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
366	Harzianumnones B	<i>T. Harzianum</i>	antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
367	Harzianumnones B	<i>T. Harzianum</i> Th-R16	antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
368	Harziphilon	<i>T. Harzianum</i>	antifungal activity	(Khan et al. 2020)
369	Heptatriacontanol	<i>T. erinaceum</i> IT-58, <i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. afroharzianum</i> P8, <i>T. Harzianum</i> P11	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. mycelium</i>	(Tchameni et al. 2020)
370	Homothallins	<i>T. koningii</i>	affect the morphology of of Phytophthora	(Vinale et al. 2014)

Nr.	Metabolite	Trichoderma spp. (isolates)	Effect	Author
371	Hydrophobin		Positive effect on plant development. Modify plant growth in a	(Lombardi et al. 2020)
372	Hydroxy-2,3-dimethyl-7-methoxychromone	<i>T. citrinoviride</i> cf-27,	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
373	Hydroxyphenylacetic acid	<i>Trichoderma</i> sp. TA26-28	-	(Meng-Fei et al. 2019)
374	Hydroxyphenylethanol	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
375	Hydroxyphenyl[methyl]-1,4-dimethyl-bis(methylthio)piperazine-2,5-dione	<i>T. virens</i> Y13-3	-	(Meng-Fei et al. 2019)
376	Inconnu	<i>T. erinaceum</i> IT-58, <i>T. Harzianum</i> P11	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
377	Indole-3-acetaldehyde	<i>T. atroviride</i> , <i>T. virens</i>	Stimulates growth in plants	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
378	Indole-3-acetic acid (IAA)	<i>T. atroviride</i> , <i>T. virens</i>	Stimulates growth in plants	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
379	Indole-3-carboxaldehyde	<i>T. atroviride</i> , <i>T. virens</i> , <i>T. Harzianum</i> R10	Stimulates growth in plants	(Contreras-Cornejo et al. 2016, Meng-Fei et al. 2019)
380	Isoamyl 2-methylpropanoate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
381	Isobutyl butanoate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
382	Isobutyl phenylacetate	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
383	Isoechinulin A	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	Antimicroalgal	(Meng-Fei et al. 2019)
384	Isopentyl acetate	<i>T. harzianum</i> T-22	Antimicrobial activities	(Li et al. 2018)
385	Isopentyl acetate	<i>T. harzianum</i> T-22	Antimicrobial activities	(Li et al. 2018)
386	Koninginin A	<i>T. koningiopsis</i> YIM, PH30002	Siderophoric, antifungal and antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
387	Koninginin B	<i>T. koningiopsis</i> YIM, PH30003	Siderophoric, antifungal and antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
388	Koninginin D	<i>T. koningiopsis</i> YIM, PH30004	Siderophoric, antifungal and antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
389	Koninginin F	<i>T. koningiopsis</i> YIM, PH30005	Siderophoric, antifungal and antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
390	Koninginin M	<i>T. koningiopsis</i> YIM, PH30006	Antifungal and antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
391	koninginin A	<i>koningiopsis</i> Y10-2, <i>T. koningii</i>	Plant growth regulator. Antifungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Takahiro et al. 2013, Khan et al. 2020, Kumari and Srividhya 2020, Contreras-Cornejo et al. 2016, Meng-Fei et al. 2019)
392	Koninginin B	<i>T. koningiopsis</i>	Antifungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Kumari and Srividhya 2020, Takahiro et al. 2013, Khan et al. 2020)
393	Koninginin D	<i>T. koningii</i> , <i>koningiopsis</i> Y10-2	Antifungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Meng-Fei et al. 2019, Contreras-Cornejo et al. 2016, Takahiro et al. 2013, Khan et al. 2020)
394	Koninginin E	<i>T. koningii</i>	Antifungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Meng-Fei et al. 2019, Takahiro et al. 2013, Khan et al. 2020)
395	Koninginin F	<i>T. koningiopsis</i> , <i>T. koningii</i>	Antifungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Kumari and Srividhya 2020, Meng-Fei et al. 2019, Takahiro et al. 2013, Khan et al. 2020)
396	Koninginin G	<i>T. aureoviride</i>	Antifungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Meng-Fei et al. 2019, Takahiro et al. 2013, Khan et al. 2020)
397	Koninginin G triacetate	<i>T. aureoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
398	Koninginin L	<i>T. koningiopsis</i> strain (QA-3)	Antifungal activity	(Kumari and Srividhya 2020)
399	Koninginin T	<i>T. koningiopsis</i> strain (QA-3)	Antifungal activity	(Kumari and Srividhya 2020)
400	Koningiopsisins A-H	(nd)	Antifungal activity	(Kumari and Srividhya 2020)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
401	Ledol	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
402	Lignoren	<i>T. atroviride</i> S361, <i>T. citrinoviride</i> , <i>T. lignorum</i> HKI 0257	Antibacterial and antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
403	Lutidonecarboxylic acid	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
404	Lys Asp Tyr Glu Leu	<i>T. Harzianum</i>	anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
405	Methoxymethyl-1H-pyrrole-2-carbaalde-hyde	<i>T. atroviride</i> S361	-	(Meng-Fei et al. 2019)
406	Methyl 2,8-dihydroxy-6-methyl-9-oxo-9H-xanthene-1-carboxylate	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	-	(Meng-Fei et al. 2019)
407	Methyl 3,4-di-O-acetyl-2-O-methylfucufuranoside	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
408	Methyl benzoate	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
409	Methyl decanoate	<i>Trichoderma</i> sp. 09	-	(Meng-Fei et al. 2019)
410	Methyl elaidate	<i>Trichoderma</i> sp.	-	(Meng-Fei et al. 2019)
411	Methyl hexadecanoate	<i>Trichoderma</i> sp. 09	-	(Meng-Fei et al. 2019)
412	Methyl hydroxytriazaindolizine	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
413	Methyl stearate	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24	-	(Meng-Fei et al. 2019)
414	Methyl(2E)-4,4dimethyl-2-pentenoate	<i>T. virans</i> G-42	-	(Li et al. 2018)
415	Methyl(2E)-4,4dimethyl-2-pentenoate	<i>T. virans</i> G-42	-	(Li et al. 2018)
416	Methyl-1,3,8-trihydroxyanthraquinone	<i>T. Harzianum</i> T-4	-	(Meng-Fei et al. 2019)
417	Methyl-benzaldehyde	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
418	Methylcordysin A	<i>T. asperellum</i> IMI 393899, <i>T. atroviride</i> TS, <i>T. asperellum</i> cf44-2	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
419	Methylene-lanost-8-en-3b-ol	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	-	(Meng-Fei et al. 2019)
420	Methylmalonic acid*	<i>T. asperellum</i> CCTCC-RW14	Extract with antifungal activities against <i>F. oxysporum</i>	(Saravankumar et al. 2015)
421	Microsphaeropsin	<i>Trichoderma</i> sp. 307	-	(Meng-Fei et al. 2019)
422	Microsphaeropsin B	<i>Trichoderma</i> sp. 307	-	(Meng-Fei et al. 2019)
423	Microsphaeropsin C	<i>Trichoderma</i> sp. 307	-	(Meng-Fei et al. 2019)
424	Milbemycin B*	<i>T. asperellum</i> CCTCC-RW14	Extract with antifungal activities against <i>F. oxysporum</i>	(Saravankumar et al. 2015)
425	m-methoxyphenol	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
426	N-2'-hydroxy-3'E-octadecenoyl-1-o-b-D-glucopyranosyl-9-methyl-4E,8Espi ngadiene	<i>Trichoderma</i> sp. 09	Antifungal	(Meng-Fei et al. 2019)
427	N- $\alpha$ -(tert-Butoxycarbonyl)-L-Valine*	<i>T. asperellum</i> CCTCC-RW14	Extract with antifungal activities against <i>F. oxysporum</i>	(Saravankumar et al. 2015)
428	N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase	<i>T. Harzianum</i>	Lysis of cell wall during mycoparasitism	(Kumari and Srividhya 2020)
429	Nafuredin	<i>T. citrinoviride</i> cf-27, <i>Trichoderma</i> sp. TA26-28	Antimicrobial and antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
430	Neoechinulin A	<i>T. koningiopsis</i> Y10-2	-	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
431	Nerolidol	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
432	Nonanal	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
433	N-Undecanoylglycine	<i>T. Harzianum</i>	Anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
434	Octaketide keto diol	<i>T. Harzianum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
435	Olemolide	<i>T. koningiopsis Y10-2</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
436	o-methylchrysophanol	<i>Trichoderma</i> sp. TA26-28	-	(Meng-Fei et al. 2019)
437	oxosorbicillinol	<i>Trichoderma</i> sp. USF-2690, <i>T. reseei ZC121</i>	Antimicrobial photodynamic therapy. DPPH-radical-scavenging	(Yang et al. 2020, Meng-Fei et al. 2019)
438	Pachybasin	QTYC77T. <i>Harzianum</i>	-	(Zhang et al. 2020)
439	pachybasin	<i>T. Harzianum ETS 323</i>	antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
440	Pachybasin	<i>T. Harzianum Th-R16</i>	antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
441	Pachybasin	<i>T. Harzianum Th-R16</i>	antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
442	Pachybasin	<i>Trichoderma</i> sp. TA26-28	-	(Meng-Fei et al. 2019)
443	Palmitic acid	<i>T. koningii T-8</i> , <i>T. Harzianum (RS-1, T-4)</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
444	p-Decyloxybenzoic acid	<i>T. Harzianum</i>	anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
445	Penicillenol B1	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
446	Penicillenol B2	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
447	Penicillenol D	<i>T. citrinoviride</i>	Cytotoxic	(Meng-Fei et al. 2019)
448	Pentanoic acid, oct-4-yl ester	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
449	Peptaibols: g alamethicins, harzianins, zervamicins, trikoningin KA V, trikoningin KB I and KB II, Suzukacillin, alamethicin	<i>T. koningiopsis</i> , <i>T. virens</i> , <i>T. gamsii</i>	antimicrobial properties	(Kumari and Srividhya 2020, Khan et al. 2020) ( <a href="http://peptaibol.cryst.bbk.ac.uk/home.shtml">http://peptaibol.cryst.bbk.ac.uk/home.shtml</a> )
450	Phenol, 2-1,1-dimethylethyl)-4-(1-methyl-1-phenylethyl	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
451	Phenylacetone	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
452	phenylcinnamic acid	<i>T. viridescens TS0404</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
453	Phenylethyl Alcohol	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadano et al. 2020)
454	Phthalic acid	<i>T. erinaceum IT-58</i> , <i>T. gamsii IT-62</i> , <i>T. afroharzianum PS</i> , <i>T. Harzianum P11</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. mycelium</i>	(Tchameni et al. 2020)
458	Prealamethicin F50	<i>T. koningiopsis</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
459	Pregnenolone	<i>T. afroharzianum PS</i>	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. mycelium</i>	(Tchameni et al. 2020)
460	Proteases	<i>T. erinaceum IT-58</i> , <i>T. gamsii IT-62</i> , <i>T. afroharzianum PS</i> , <i>T. Harzianum P11</i>	antagonistic activities	(Tchameni et al. 2020)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
461	Psoromic acid	<i>T. Harzianum</i>	anti-fungal activity	(Hu et al. 2019)
462	Pyrazole-3-carboxylic acid	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	-	(Meng-Fei et al. 2019)
463	Pyridoxatin	<i>Trichoderma</i> sp. MF106	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
464	Pyrocalciferol	<i>T. afroharzianum</i> P8	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
465	Pyrrole-2-carboxylic acid	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	-	(Meng-Fei et al. 2019)
466	Rezishanone	<i>T. viride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
467	Saturni spol A	<i>T. saturnisporum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
468	Saturni spol B	<i>T. saturnisporum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
469	Saturni spol C	<i>T. saturnisporum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
470	Saturni spol D	<i>T. saturnisporum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
471	Saturni spol E	<i>T. saturnisporum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
472	Saturni spol F	<i>T. saturnisporum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
473	Saturni spol G	<i>T. saturnisporum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
474	Saturni spol H	<i>T. saturnisporum</i>	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
475	Scytalone	<i>Trichoderma</i> sp. Jing-8	-	(Meng-Fei et al. 2019, Zhang et al. 2017)
476	Siderophores* (Coprogen, coprogen B, ferricrocin)	<i>T. hamatum</i> , <i>T. koningii</i> and <i>T. pseudokoningii</i> , <i>T. Harzianum</i> , <i>T. reesei</i> , <i>T. Viride</i>	Plant growth promoting	(Kumari and Srividhya 2020, Palyzová and Sokolová 2019)
477	Sml	<i>T. virens</i>	Induces plant defense	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
478	Sohirnone A	<i>T. longibrachiatum</i>	antifungal activity	(Khan et al. 2020)
479	Sohirnone A	<i>T. longibrachiatum</i> , YM311505	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
480	Sorbicillin	<i>T. longibrachiatum</i>	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
481	Sorbicillin A	<i>T. saturnisporum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
482	Sorbicillin B	<i>T. saturnisporum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
483	Sorbicillinoids	<i>T. reesei</i> ZC121	Antimicrobial photodynamic therapy	(Yang et al. 2020)
484	Soya-cerebroside I	<i>Trichoderma</i> sp. TA26-28	-	(Meng-Fei et al. 2019)
485	Spirosorbicillinol A	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
486	Spirosorbicillinol B	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
487	Spirosorbicillinol C	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
488	Squalene	<i>T. longibrachiatum</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
489	Stachyline B	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	-	(Meng-Fei et al. 2019)
490	Stigmasterol	<i>T. Harzianum</i>	Antifungal activity ( <i>F. oxysporum</i> )	(Khan et al. 2020)
491	Stigmasterol	<i>T. koningii</i> T-11, <i>T. Harzianum</i> T-4	-	(Meng-Fei et al. 2019)
492	T22azaphilone	<i>T. Harzianum</i> (T22, T39)	Antifungal activity. Growth inhibition of <i>R. solani</i> , <i>P. ultimum</i>	(Meng-Fei et al. 2019, Vinale et al. 2014, Khan et al. 2020, Contreras-Cornejo et al. 2016)
493	T39butenolide	<i>T. Harzianum</i> (T22, T39)	Antifungal activity	(Vinale et al. 2014, Khan et al. 2020, Meng-Fei et al. 2019)
494	Tetramethyl pyrazine	<i>T. atroviride</i> , <i>T. asperellum</i>	Identified in extracts with antimicrobial activities	(Stracquadanio et al. 2020)
495	Thiocyanate of 11-hydroxy-3,17-dioxoandroster-4-en-9-yl	<i>T. gamsii</i> IT-62, <i>T. Harzianum</i> P11	Identified in extracts that inhibited the mycelial growth of <i>P. m</i>	(Tchameni et al. 2020)
496	Trans-3,4-dihydro-2,4,8-trihydroxynaphthalen-1(2H)-one	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	-	(Meng-Fei et al. 2019)
497	Trichbenzoesochromen A	<i>Trichoderma</i> sp. SCSJO41004	-	(Meng-Fei et al. 2019)
498	Trichoacorenol	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24, <i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
499	Trichoacorenol B	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24	-	(Meng-Fei et al. 2019)
500	Trichoacorenol C	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24	-	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
501	Trichobranchin D-I	<i>koningiopsis</i> YIM, PH30006	-	(Meng-Fei et al. 2019)
502	Trichobrevin BIII-D	<i>koningiopsis</i> YIM, PH30002	Anti-tumor	(Meng-Fei et al. 2019)
503	Trichocadimin A	<i>T. virens</i> Y13-3	-	(Meng-Fei et al. 2019)
504	Trichocage B	<i>Trichoderma</i> sp. Xy24	-	(Meng-Fei et al. 2019)
505	Trichocarane A	<i>T. virens</i> Y13-3	Antimicrobial	(Meng-Fei et al. 2019)
506	Trichocaranes A – D	<i>T. atroviride</i> , <i>T. virens</i> , <i>T. Harzianum</i>	Stimulates growth in plants	(Takahiro et al. 2013, Contreras-Cornejo et al. 2016)
507	Trichocarotin A, B, F, G	<i>T. virens</i> Y13-3	-	(Meng-Fei et al. 2019)
508	Trichocarotin C-E, H	<i>T. virens</i> Y13-3	Antimicrobial	(Meng-Fei et al. 2019)
509	Trichocellins	<i>T. viride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
510	Trichocitrin	<i>T. citrinoviride</i> cf-27	Antimicrobial	(Meng-Fei et al. 2019)
511	Trichodecenins	<i>T. viride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
512	Trichodemic acid	<i>T. spirale</i> A17	Anti-tumor	(Meng-Fei et al. 2019)
513	Trichoderiol A	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
514	Trichoderiol C	<i>T. citrinoviride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
515	Trichodermadione A	<i>T. atroviride</i> S361	-	(Meng-Fei et al. 2019)
516	Trichodermadione B	<i>T. atroviride</i> S361	-	(Meng-Fei et al. 2019)
517	Trichodermaerin	<i>T. asperellum</i> IMI 393899, <i>T. atroviride</i> TS, <i>koningiopsis</i> Y10-2	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019)
518	Trichodermaketone A	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
519	Trichodermaketone B	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
520	Trichodermaketone C	<i>T. koningii</i>	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019, Kumari and Srividhya 2020)
521	Trichodermaketone D	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
522	Trichodermanone A	<i>T. viride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
523	Trichodermanone B	<i>T. viride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
524	Trichodermanone C	<i>T. viride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
525	Trichodermanone D	<i>T. viride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
526	Trichodermaol	<i>T. Harzianum</i> ETS 323	antimicrobial activities	(Kumari and Srividhya 2020)
527	Trichodermin	<i>T. brevicompactum</i> , <i>T. sporulosum</i> , <i>T. sp.</i> YMF1.02647, <i>T. Harzianum</i> , <i>T. reseei</i> , <i>T. Viride</i>	Antifungal activity	(Meng-Fei et al. 2019, Kumari and Srividhya 2020, Contreras-Cornejo et al. 2016)
528	Trichodermone A	<i>T. atroviride</i> , <i>Trichoderma</i> sp. YLF-3	-	(Meng-Fei et al. 2019)
529	Trichodermone B	<i>Trichoderma</i> sp. YLF-3	-	(Meng-Fei et al. 2019)
530	Trichoderol A	<i>Trichoderma</i> sp	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)

Nr.	Metabolite	<i>Trichoderma</i> spp. (isolates)	Effect	Author
531	Trichoderone	<i>Trichoderma</i> sp	Cytotoxic, Enzyme inhibiting	(Meng-Fei et al. 2019)
532	Trichoderone A	<i>T. gamsii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
533	Trichoderone B	<i>T. gamsii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
534	Trichodimerol	<i>Trichoderma</i> sp. YM311505, <i>Trichoderma</i> sp. Xy24	Antifungal, Enzyme inhibiting	(Meng-Fei et al. 2019)
535	Trichodin A	<i>Trichoderma</i> sp. MF106	Antibacterial activity	(Meng-Fei et al. 2019)
536	Trichodin B	<i>Trichoderma</i> sp. MF106	-	(Meng-Fei et al. 2019)
537	Trichodones A/C	(nd)	inhibitory effects on bacteria, fungi and yeast	(Kumari and Srividhya 2020)
538	Trichocharzin	<i>T. Harzianum</i> R5	Antimicrobial	(Meng-Fei et al. 2019)
539	Trichoketide A	<i>T. koningiopsis</i> strain (QA-3)	Antifungal activity	(Kumari and Srividhya 2020)
540	Trichokindin I	<i>T. Harzianum</i>	Bioinducer	(Meng-Fei et al. 2019)
541	Trichokindin II	<i>T. Harzianum</i>	Bioinducer	(Meng-Fei et al. 2019)
542	Trichokindin III	<i>T. Harzianum</i>	Bioinducer	(Meng-Fei et al. 2019)
543	Trichokindin IV	<i>T. Harzianum</i>	Bioinducer	(Meng-Fei et al. 2019)
544	Trichokindin V	<i>T. Harzianum</i>	Bioinducer	(Meng-Fei et al. 2019)
545	Trichokindin VI	<i>T. Harzianum</i>	Bioinducer	(Meng-Fei et al. 2019)
546	Trichokindin VII	<i>T. Harzianum</i>	Bioinducer	(Meng-Fei et al. 2019)
547	Trichokonin A	<i>T. longibrachiatum</i> SMF2	Antiviral, Anti-tumor, Antimicrobial, Plant resistance	(Meng-Fei et al. 2019)
548	Trichokonin B	<i>T. longibrachiatum</i> SMF2	-	(Meng-Fei et al. 2019)
549	Trichokonin VI	<i>T. longibrachiatum</i>	Inhibits primary root growth	(Contreras-Cornejo et al. 2016)
550	Trichokonin-Ia	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
551	Trichokonin-Ib	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
552	Trichokonin-II	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
553	Trichokonin-III	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
554	Trichokonin-IX	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
555	Trichokonin-V	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
556	Trichokonin-VI	<i>T. koningii</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
557	Trichopyrone	<i>T. viride</i>	-	(Meng-Fei et al. 2019)
558	Trichorenin A	<i>T. vir-ens</i> Y13-3	Antimicrobial	(Meng-Fei et al. 2019)
559	Trichorenin B	<i>T. vir-ens</i> Y13-3	Antimicrobial	(Meng-Fei et al. 2019)
560	Trichorenin C	<i>T. vir-ens</i> Y13-3	Antimicrobial	(Meng-Fei et al. 2019)