

IDENTIFICACIÓN Y BIOCONTROL *IN VITRO* DE AISLADOS DE *FUSARIUM* SPP. PROCEDENTES DE *CICER ARIETINUM* L.

Identification and *in vitro* biocontrol of isolates of *Fusarium* spp. from *Cicer arietinum* L.

✉Yanisia Duarte^{1*}, ✉Benedicto Martínez¹, ✉Alexander Bernal Cabrera²

¹Departamento de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).

Apartado 10. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

²Centro de Investigaciones Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Villa Clara, Cuba.

RESUMEN: El trabajo tuvo como objetivos la identificación, a nivel de especie, de tres aislados de *Fusarium* spp. procedentes de plantas de *Cicer arietinum* L. y la selección *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma* sp. para su biocontrol. Se desarrolló la amplificación por PCR del gen que codifica para el factor de elongación y traducción 1α (*tef-1α*), con la utilización de los cebadores EF1 y EF2. Las secuencias de los productos amplificados purificados y secuenciados, se depositaron en la base de datos del GenBank. Se determinaron los mecanismos de acción de ocho aislados de *Trichoderma* sp. (*T*), pertenecientes a la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas (UCLV). El efecto antagónico (antibiosis y competencia por espacio) de los aislados de *Trichoderma* sp. se evaluó mediante la técnica de cultivo dual y el cálculo del Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR). Se identificó a *Fusarium oxysporum* (Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen) (MT163654, MT163657 y MT185672), con un 100 % de similitud con las secuencias del GenBank. Todos los aislados de *Trichoderma* sp. produjeron elevada inhibición del desarrollo de los aislados de *F. oxysporum* (*Fo.1*, *Fo.2* y *Fo.3*) a partir de las 48 h, destacándose *T* 7.5, *T* 10.4 y *T* 11.1. Los aislamientos del antagonista mostraron un crecimiento más rápido que los hongos fitopatógenos, y se ubicaron en la clase 1 de la escala de Bell *et al.* Los mayores PICR se obtuvieron con los aislamientos *T* 10.4 y *T* 11.1, frente a los tres aislados, *Fo.1*, *Fo.2* y *Fo.3*. En el análisis integral de los mecanismos estudiados, se evidenció que los aislamientos *T* 7.5, *T* 10.4 y *T* 11.1 fueron las más promisorias para el biocontrol de *F. oxysporum*.

Palabras clave: biocontrol, garbanzo, hongos fitopatógenos, identificación, TEF.

ABSTRACT: The objectives of this study were the species-level identification and *in vitro* selection of *Trichoderma* sp. isolates for biocontrol of three isolates of *Fusarium* spp. from *Cicer arietinum* L. plants. PCR amplification of the gene encoding elongation and translation factor 1α (*tef-1α*) was performed using primers EF1 and EF2. The sequences of the purified and sequenced amplified products were deposited in the GenBank database. The mechanisms of action of eight *Trichoderma* sp. (*T*) isolates from the Central University "Marta Abreu" of Las Villas (UCLV) were determined. The antagonistic effect (antibiosis and competition for space) of the *Trichoderma* sp. isolates was evaluated using the dual culture technique and the calculation of the Percentage Inhibition of Radial Growth (PIRG). *Fusarium oxysporum* (Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen) (MT163654, MT163657, and MT185672) was identified, with 100% similarity to the GenBank sequences. All *Trichoderma* sp. isolates showed high development inhibition of *F. oxysporum* isolates (*Fo.1*, *Fo.2*, and *Fo.3*) after 48 h, with *T* 7.5, *T* 10.4, and *T* 11.1 as the most outstanding isolates. The antagonist isolates showed faster growth than the phytopathogenic fungi, and they were classified as class 1 on the Bell *et al.* scale. In the three isolates of *Fusarium* spp., the highest PIRG values were achieved by *T* 10.4 and *T* 11.1 isolates. From the comprehensive analysis of the mechanisms studied, *T* 7.5, *T* 10.4 and *T* 11.1 were the most promising isolates for biocontrol of *F. oxysporum*.

Keywords: phytopathogenic fungi, chickpea, identification, TEF, biocontrol.

INTRODUCCIÓN

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) se sitúa como la quinta leguminosa de importancia a nivel mundial, siendo fuente de proteínas, minerales y vitaminas para la alimentación humana y animal (1). Los principales países productores

son India (7 504 327,99 millones de toneladas), Türkiye (570 327,1 mil toneladas) y Australia (509 213,9 mil toneladas), entre otros (2).

En Cuba, para satisfacer el consumo del garbanzo por la población, se realizan importaciones originarias, en su mayoría, de México, Canadá y España (3).

*Autor para correspondencia: yduarteal@gmail.com

Recibido: 14/11/2025

Aceptado: 24/02/2026

Conflictos de interés: Los autores declaran que no existen conflictos de interés.

Contribución de los autores: Conceptualización, Investigación, Metodología, Validación, Visualización, Análisis formal, Redacción - borrador original: Yanisia Duarte Leal. Metodología, Análisis formal y Redacción - revisión y edición: Benedicto Martínez Coca. Recursos, Investigación y Redacción - revisión y edición: Alexander Bernal Cabrera.



Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0).
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



Las enfermedades constituyen una de las causas más importantes de la reducción de los rendimientos agrícolas del garbanzo a nivel mundial. Entre estas se encuentran las ocasionadas por hongos patógenos del suelo como *Fusarium* spp., *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, encontrándose, con mayor incidencia, especies pertenecientes al género *Fusarium*, las cuales provocan síntomas de pudrición de la raíz y marchitez vascular (4).

La clasificación taxonómica de *Fusarium* ha sido ampliamente investigada, teniendo en consideración caracteres morfológicos como forma, tamaño y septación de conidios, tipo de conidióforo y células conidiógenas y presencia o ausencia de clamidosporas. En diversos casos, estas características resultan ser insuficientes para una correcta identificación a nivel de especie, debido a la similaridad de las estructuras, resultando necesaria la implementación de técnicas moleculares (5).

La identificación molecular, mediante la extracción de ADN y la secuenciación de genes informativos, complementa las insuficiencias de la identificación morfológica. Estas herramientas posibilitan el cálculo de índices de variabilidad genética dentro de una población y establecen diferencias entre genotipos de las especies de *Fusarium* (6).

La secuenciación de genes, permitió que numerosos autores identifiquen diferentes clados dentro del complejo de especies de *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder & Hansen (FOSC), utilizando diferentes regiones génicas como el factor de elongación de la traducción 1 α (*tef-1 α*), la segunda subunidad mayor de la ARN polimerasa II (*rpb2*), beta-tubulina (*tub2*), actina (*act1*), calmodulina (*CaM*) e histona (*h3*), entre otros (7). El *tef-1 α* es uno de los marcadores de elección más confiables a nivel de especie, debido a que es altamente informativo para *Fusarium* spp., con alto nivel de polimorfismo entre especies estrechamente relacionadas. Se desarrolló, por primera vez, para investigar el linaje complejo de especies de *Fusarium oxysporum* (FOSC), grupo de cepas patógenas de importancia económica, morfológicamente similares, pero filogenéticamente distintas (8).

El manejo de este agente fitopatógeno en campo, se realiza con la aplicación de medidas preventivas y/o productos químicos. El uso excesivo de estos productos ha ocasionado contaminación ambiental, de suelos y de fuentes de agua, provocando daños a la salud humana y animal. Debido al impacto negativo de los plaguicidas sintéticos, se hizo necesaria la implementación de nuevas alternativas, como el uso de los biocontroladores que limitan el desarrollo de los fitopatógenos (9).

En la actualidad, diversas especies pertenecientes al género *Trichoderma* son ampliamente utilizadas para el control de enfermedades en plantas, pues poseen la capacidad de producir enzimas hidrolíticas, competencia por espacio y nutrientes, la antibiosis y el micoparasitismo, inducción de mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos en las plantas, así como la promoción del crecimiento vegetal (10, 11).

El presente trabajo tuvo como objetivos identificar, a nivel de especie, tres aislados de *Fusarium* spp. procedentes de plantas de *C. arietinum* y la selección *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma* sp. para su biocontrol.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Laboratorio de Micología Vegetal (LMV) del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), en el municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba.

Identificación molecular de aislamientos de *Fusarium* spp.

Se estudiaron aislamientos de *Fusarium* spp., procedentes de plantas de *C. arietinum*, pertenecientes a la Colección de cultivos microbianos del LMV del CENSA. Los aislados se sembraron en placas Petri de 90 mm de diámetro ($\emptyset$) que contenían 15 ml de medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA; Biocen). Las placas inoculadas con los aislados se sellaron con papel parafilm e incubaron (incubadora Friocell) a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad constante, durante siete días. El ADN se extrajo por el método CTAB (cetyl trimethylammonium bromide) (12). La calidad del ADN extraído se analizó mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1 %, teñido con bromuro de etidio en tampón TAE 1 $\times$, y se visualizó, bajo luz ultravioleta, para comprobar la concentración. Seguidamente, el ADN se diluyó hasta una concentración final de 50 ng de ADN/ μl en agua destilada.

Para la amplificación del gen que codifica para el factor de elongación y traducción 1 α (*tef-1 α*), se utilizaron los cebadores: EF1 (ATGGGTAAGGAGGACAAGAC) y EF2 (GGAAGTACCACTGATCATGTT) (8). Las reacciones de amplificación se ajustaron a un volumen final de 25 μl con 1,5 mM de MgCl_2 ; 0,2 μM de desoxinucleótidos trifosfato (dNTP's); 0,4 μM para cada cebador; 0,5 U de Taq DNA polimerasa (Roche CustomBiotech, USA); 10 ng/ μl de ADN genómico de cada aislado y agua libre de nucleasa para completar el volumen total. El programa de amplificación (5) para la PCR se realizó en el termociclador ESCO (Swift.MaxPro, USA).

Los productos de PCR se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1 %, teñidos con bromuro de etidio en tampón TAE 1 $\times$, y se visualizaron bajo luz ultravioleta para comprobar el tamaño y la pureza de la amplificación. El tamaño de cada producto obtenido se determinó por comparación con los marcadores de peso molecular de 1 kb Plus Ladder y de 100 pb Low DNA Mass Ladder (Invitrogen Life Technologies, USA).

Los fragmentos amplificados se procesaron con fosfatasa alcalina de camarón (rSAP) y ExoSAP-IT® (USB, USA), según las indicaciones del fabricante. Posteriormente, se secuenciaron en ambas direcciones, con sus respectivos cebadores específicos, realizado en ACTGene, Análisis Moleculares Ltda (Porto Alegre, RS, Brasil).

Para la edición de las secuencias obtenidas, se utilizaron los programas BioEdit Sequence Alignment Editor v7.2.5 (13), y Lasergene SeqMan v7.0.0 (DNASTar, Madison, USA). La identificación se llevó a cabo por comparación entre las secuencias consenso obtenidas, y las secuencias homólogas depositadas en la base de datos del GenBank del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) con el uso de la Herramienta Básica de Alineamiento Local (BLAST) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Las secuencias obtenidas de los tres aislados de *Fusarium* se depositaron en la base de datos del GenBank.

Para comprobar la similitud de los aislamientos estudiados se realizó un alineamiento de las secuencias génicas con el programa múltiple de secuencias ClustalW, software MEGA v7.0.14 (14). Se utilizaron secuencias accesibles provenientes del NCBI. Las secuencias de *F. oxysporum* a partir de *tef-1a* (No. acceso JF740777) (15), y de *F. oxysporum* (No. acceso GU170541) (16), depositadas en la base de datos del GenBank, se incluyeron como especies de referencia junto con las obtenidas en este estudio.

Efecto antagónico in vitro de los aislamientos de *Trichoderma* sp. frente a tres aislados de *F. oxysporum*

La investigación se desarrolló con ocho aislamientos de *Trichoderma* sp. denominadas (T 1.1; T 5.6; T 6.2; T 7.2; T 7.5; T 8.1; T 10.4 y T 11.1) provenientes del Centro de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Los aislados de *Fusarium* spp. (Fo.1; Fo.2 y Fo.3) utilizados, pertenecen a la Colección de cultivos microbianos del LMV del CENSA.

Se evaluaron dos modos de acción (antibiosis y competencia por espacio) de los aislamientos de *Trichoderma* sp. frente a *Fusarium* spp., utilizando el método de cultivo dual (CD) descrito por Martínez y Solano (17).

Para el montaje del CD, los aislamientos de *Trichoderma* sp. se sembraron en medio de cultivo Agar Malta (BioCen) y se incubaron (incubadora Friocell) a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad constante, durante tres días. Los aislados de *Fusarium* (Fo.1; Fo. 2 y Fo.3) se mantuvieron en medio de cultivo PDA (BioCen), incubados (incubadora Friocell) a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad constante durante siete días.

El CD se llevó a cabo en placas Petri ($\varnothing = 90$ mm) contentiva de 15 ml del medio de cultivo PDA, incubadas (incubadora Friocell) a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad constante. Se utilizaron discos ($\varnothing = 6$ mm) de la periferia de las colonias de ambos hongos, sembrados diametralmente opuestos uno del otro, a una distancia de 5 mm del borde. Se incluyó un control de los aislados del fitopatógeno sin el antagonista. Se realizaron tres réplicas por cada tratamiento.

Antibiosis

Se evaluó por el crecimiento micelial de los aislados de *Fusarium* spp. en el CD antes del momento de contacto físico entre ambos hongos (*Trichoderma* sp. - *Fusarium* spp.) a las 48 h, respecto a su correspondiente testigo (*Fusarium* spp.).

Competencia por espacio

El efecto antagónico se determinó mediante la escala de grados de Bell *et al.* (18). Las evaluaciones se realizaron a las 24, 48, 72 y 96 horas, midiendo el crecimiento micelial lineal de ambos hongos con una regla graduada, hasta que uno de los dos completara el área total de la placa.

Se evaluó el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) a las 96 h, con el empleo de la fórmula de Samaniego *et al.* (19): $\text{PICR} = [(R1 - R2) / R1] * 100$

donde:

R1- Crecimiento radial de la colonia en el testigo.

R2- Crecimiento radial del aislamiento fitopatógeno enfrentado al antagonista.

Los datos obtenidos se procesaron mediante Análisis de Varianza de clasificación simple y las medias se compararon según la Dócima de Rangos Múltiples de Duncan ($p \leq 0,05$), utilizando el paquete Estadístico InfoStat Profesional (20).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación molecular de aislamientos de *Fusarium* spp.

El producto de la amplificación del ADN genómico de los aislamientos de *Fusarium*, con los cebadores EF1 y EF2, tuvo un tamaño aproximado de 700 pb, observándose una banda bien definida en todos los casos (Fig.1).

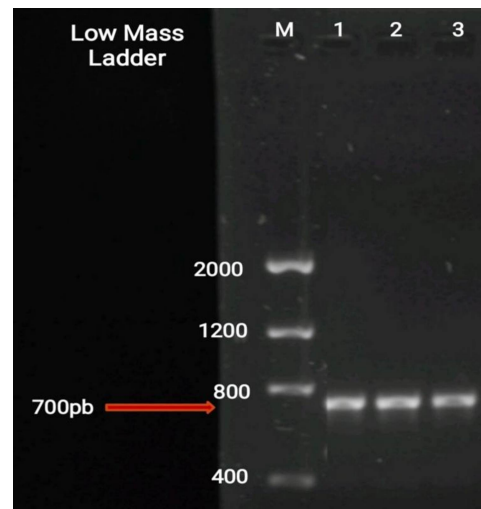


Figura 1. Fragmentos amplificados de 700 pb mediante PCR con los cebadores EF1 y EF2. M_ marcador de peso molecular (Low Mass Ladder) de 100 pb, muestras (1_ Fo.1; 2_ Fo.2 y 3_ Fo.3). / Fragments of 700 bp amplified by PCR with primers EF1 and EF2. Molecular weight marker (100 bp ladder) (Low Mass Ladder), samples (1_ Fo.1; 2_ Fo.2 and 3_ Fo.3).

Las secuencias de ADN obtenidas se depositaron en la base de datos del GenBank bajo los números MT163654 (Fo.1), MT163657 (Fo.2) y MT185672 (Fo.3). El análisis del BLAST indicó que las secuencias de los tres aislados tienen 100 % de similitud con *F. oxysporum* (100 % de identidad con JF740777, GU170541) (15, 16).

En un estudio similar, Moparthi *et al.* (21), comunicaron la presencia de diferentes especies de *Fusarium* asociadas al garbanzo en Montana. Se encontró a *F. oxysporum* como la especie más prevalente (33 %), seguida de *Fusarium acuminatum* Ellis & Everh. (21 %), *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. (15 %), *Fusarium redolens* Wollenw. (14 %), *Fusarium culmorum* (Wm. G. Sm.) Sacc. (6 %), *Fusarium sporotrichioides* Sherb. (6 %), *Neocosmospora solani* (Mart.) L. Lombard & Crous (6 %), entre otros.

Valadez-Moctezuma *et al.* (22), lograron identificar, en orden de frecuencia, a *F. oxysporum* (87,6 %), *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. (4,7 %), *Fusarium solani* Mart. Sacc. (4,7 %), *Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg. (1,5 %) y *Fusarium* sp. (1,5 %) en el garbanzo. Por otra parte, Duarte *et al.* (5), notificaron la detección de *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc. en garbanzo, mediante el uso del gen *tef-1a*.

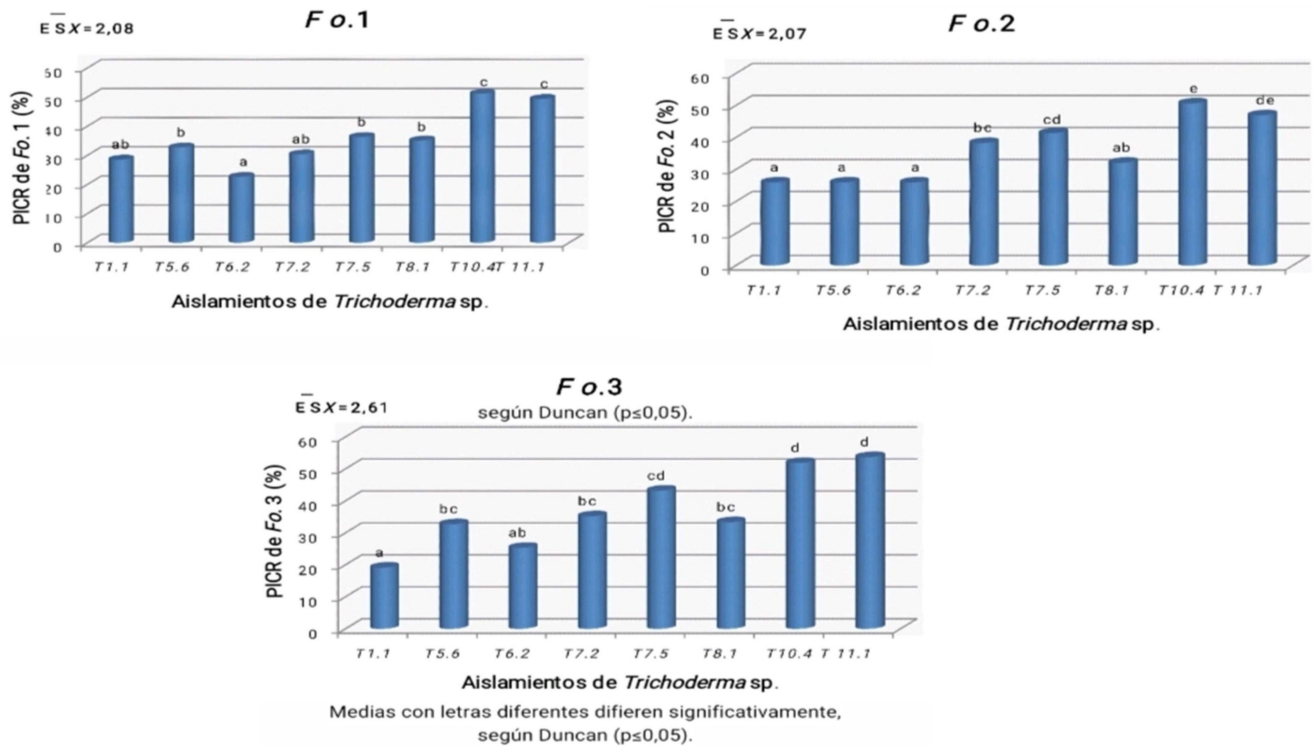


Figura 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de los aislamientos de *Trichoderma* sp. (T1.1; T5.6; T6.2; T7.2; T7.5; T8.1; T10.4 y T11.1) frente a los aislados Fo.1, Fo.2 y Fo.3 de *Fusarium oxysporum* a las 96 h. / Percentage inhibition of radial growth (PICR) of *Trichoderma* sp. (T1.1; T5.6; T6.2; T7.2; T7.5; T8.1; T10.4 and T11.1) against *F. oxysporum* isolates Fo.1, Fo.2, and Fo.3 at 96 h.

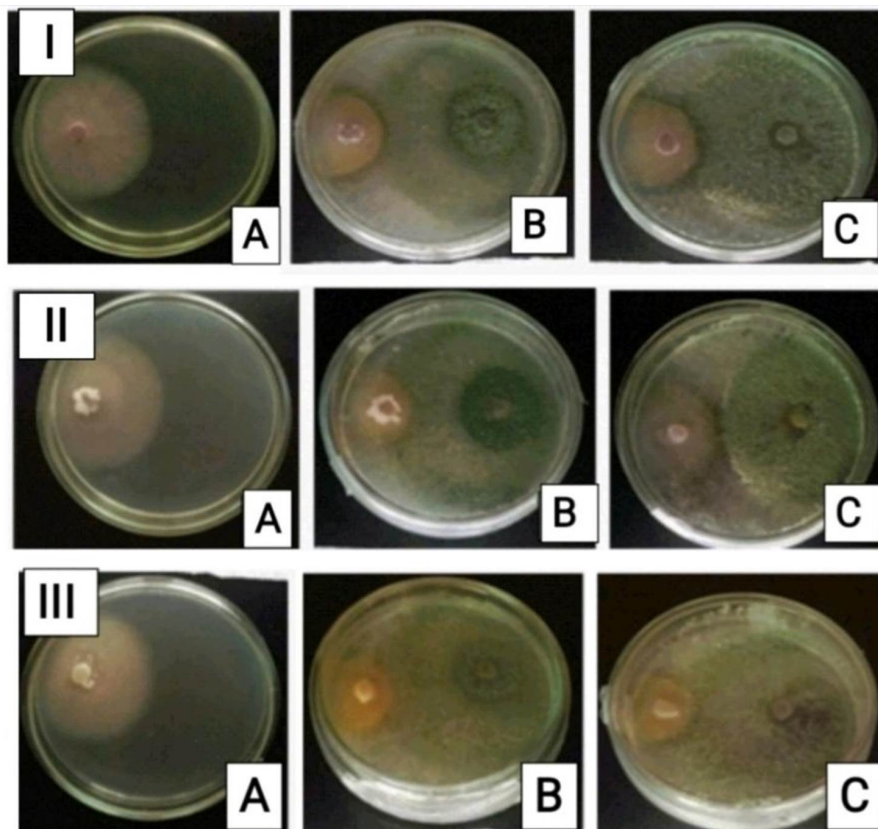


Figura 4. Competencia por espacio de *Trichoderma* sp. - *F. oxysporum* (I_Fo.1, II_Fo.2 y III_Fo.3), a las 96 horas. A_ control de *F. oxysporum*, B_ T10.4 y C_ T11.1. / Competition for space by *Trichoderma* sp. - *F. oxysporum* (I_Fo.1, II_Fo.2, and III_Fo.3), at 96 hours. A_ control of *F. oxysporum*, B_ T10.4, and C_ T11.1.

Katyayani *et al.* (30), evaluaron el efecto inhibidor de *T. harzianum*, *Trichoderma viride* Pers. y *Trichoderma koningii* Oudem sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*, concluyendo que a *T. koningii* fue la especie de mayor eficiencia en la inhibición del crecimiento micelial del patógeno.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio permitieron la identificación molecular de los tres aislamientos (*Fo.1*, *Fo.2* y *Fo.3*) como *F. oxysporum*.

Del análisis integral de los mecanismos de acción estudiados *in vitro*, los aislamientos *T* 7.5, *T* 10.4 y *T* 11.1 fueron los más promisorios para el biocontrol de *F. oxysporum*.

BIBLIOGRAFIA

- Chandana BS, Mahto RK, Singh RK, Ford R, Vaghefi N, Gupta SK, *et al.* Epigenomics as potential tools for enhancing magnitude of breeding approaches for developing climate resilient chickpea. *Genetista frontal.* 2022; 13: 900253. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.900253>
- FAOSTAT. Base de datos estadística. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2023. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize> [Acceso 26 agosto 2025].
- Vargas-Blandino D, Cárdenas-Travieso RM. Cultivo del garbanzo, una posible solución frente al cambio climático. *Cultivos Tropicales.* 2021; 42, (1):1-12.
- Razzakova N, Bababekov K, Gulmurodov R, Rakhmonov J. Fungal diseases of chickpeas in irrigated and rainfall areas of Uzbekistan and their control measures. *E3S Web of Conferences.* 2024; 563 (03005): 1-6. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202456303005>
- Duarte Y, Martínez B, Echevarría A, Santos do Carmo de Souza E, N.G. Miller R, Café-Filho AC. Primer informe de *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc. afectando al cultivo del garbanzo en Cuba. *Rev. Protección Veg.* 2022; 37(2):1-7.
- O'Donnell K, Whitaker BK, Laraba I, Proctor RH, Brown DW, Broders K, *et al.* DNA sequence-based identification of *Fusarium*: A work in progress. *Plant Disease* 2022; 106:1597-1609. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-2035-SR>
- Ujat AH, Vadamalai G, Hattori Y, Nakashima C, Wong CKF, Zulperi D. Current classification and diversity of *Fusarium* species complex, the causal pathogen of *Fusarium* wilt disease of banana in Malaysia. *Agronomy.* 2021; 11:1955. <https://doi.org/10.3390/agronomy11101955>
- O'Donnell K, Kistler HC, Cigelnik E, Ploetz RC. Multiple evolutionary origins of the fungus by gene relocation during evolution of the causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95:2044-2049. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2044>
- López-López ME, Del Toro Sánchez CL, Gutiérrez-Lomelí M, Ochoa Ascencio S, Aguilar-López JA, Robles García MA, *et al.* Aislamiento y caracterización de *Trichoderma* spp. para actividad antagónica contra patógenos del fruto del aguacate (*Persea americana* Mill). *Rev. Horticulura.* 2022; 8(8): 714. <https://doi.org/10.3390/horticulurae8080714>
- Yao X, Guo H, Zhang K, Zhao M, Ruan J, Chen J. *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Front Microbiol.* 2023; 14:1160551. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>
- Ramzan U, Abid K, Zafar MA, Anwar AM, Nadeem M, Tanveer U, *et al.* *Trichoderma*: multitasking biocontrol agent. *Int J Agri Biosci.* 2023. 12(2): 77-82. <https://doi.org/10.47278/journal.ijab/2023.047>
- Doyle JJ, Doyle JL. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 1990; 12:13-15.
- Hall TA. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 1999; 41:95-98.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution.* 2016; 33: 1870-1874.
- O'Donnell K, Humber RA, Geiser DM, Kang S, Park B, Robert VA *et al.* Phylogenetic diversity of insecticulous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and *Fusarium* MLST. *Mycologia.* 2012; 104(2):427-45. <https://doi.org/10.3852/11-179>
- Migheli Q, Balmas V, Harak H, Sanna S, Scherm B, O'Donnell K. Molecular phylogenetic diversity of dermatologic and other human pathogenic fusarial isolates from hospitals in northern and central Italy. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(4):1076-84. <https://doi.org/10.1128/JCM.01765-09>
- Martínez B, Solano T. Antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria solani* (Ellis y Martin) Jones y Grout. *Rev. Protección Veg.* 1995; 10(3): 221-225.
- Bell DK, Wells HD, Markam CR. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against six fungal pathogens. *Phytopathology.* 1982; 72:379-382.
- Samaniego G, Ulloa S, Herrera S. Hongos del suelo antagonistas de *Phymatotrichum omnivorum*. *Rev. Mex. Fitopatología.* 1989; 8:86-95.
- Di Rienzo J, Balzarini M, González L, Tablada M, Guzmán W, Robledo C, *et al.* InfoStat Profesional versión 2.1. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. 2016.
- Moparthy S, Perez-Hernandez O, Burrows ME, Bradshaw MJ, Bugingo C, Brelsford M, *et al.* Identification of *Fusarium* spp. associated with chickpea root rot in Montana. *Agriculture.* 2024; 14, 974. <https://doi.org/10.3390/agriculture14070974>
- Valadez-Moctezuma E, Samir S, Rangel-Castillo AE, García-Cariño J, Juárez-Campos K, Vázquez-Reyes A, *et al.* *Fusarium* species complexes associated with chickpea wilt and stem and root rot in wheat. *Acta Biológica Colombiana.* 2025; 30 (3): 172. <https://doi.org/10.15446/abc.v30n2.108995>
- Rajani P, Rajasekaran C, Vasanthakumari MM, Olsson SB, Ravikanth G, Shaanker RU. Inhibition of plant pathogenic fungi by endophytic *Trichoderma* spp. through mycoparasitism and volatile organic compounds. *Microbiol. Res.* 2021;242: 126595. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126595>

24. Belén M, Monti MM, Gualtieri L, Ruocco M, Hermosa R, Monte E. *Trichoderma harzianum* Volatile Organic Compounds Regulated by the THCTF1 Transcription Factor Are Involved in Antifungal Activity and Beneficial Plant Responses. *J. Fungi*. 2023; 9(6): 654. <https://doi.org/10.3390/jof9060654>
25. Brizuela AM, Gálvez L, Arroyo JM, Sánchez S, Palmero D. Evaluation of *Trichoderma* spp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* and *Fusarium* wilt Control in Asparagus Crop. *Plants*. 2023;12:2846. <https://doi.org/10.3390/plants12152846>
26. Correa-Delgado R, Brito-López P, Cardoza RE, Jaizme Vega MC, Laich F, Gutiérrez S. Biocontrol potential of a native *Trichoderma* collection against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* subtropical race 4. *Agriculture*. 2024; 14, 2016: 1-22. <https://doi.org/10.3390/agriculture14112016>
27. Martínez-Coca B, Infante D, Caraballo W, Duarte-Leal Y, Echevarría-Hernández A. Antagonismo de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a aislamientos de *Fusarium* spp. procedentes de garbanzo. *Rev. Protección Veg.* 2018; 33(2): 1-13.
28. Mohiddin FA, Padder SA, Bhat AH, Ahanger MA, Shikari AB, Wani SH, *et al.* Phylogeny and optimization of *Trichoderma harzianum* for chitinase production: evaluation of their antifungal behaviour against the prominent soil borne Phyto-pathogens of temperate India. *Microorganisms*. 2021; 9(9),1962. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091962>
29. Chen J, Zhou L, Din IU, Arafat Y, Li Q, Wang J, *et al.* Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* in rhizosphere of radix pseudostellariae triggers the expression of host defense genes and improves Its growth under long-term monoculture system. *System. Front. Microbiol.* 2021; 12:579920. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.579920>
30. Katyayani KKS, Bindal S, Prakash Singh J, Rana M, Srivastava S. *In vitro* evaluation of *Trichoderma* spp. against chickpea wilt. *International Archive of Applied Sciences and Technology*. 2020; 11(3): 1-4. <https://doi.org/10.15515/iaast.0976-4828.11.3.14>