

PRODUCCIÓN DE METABOLITOS POR AISLADOS NATIVOS DE *Trichoderma* spp. Y SU ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA FRENTE A *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*, PATÓGENOS DEL PIMIENTO (*Capsicum annuum* var. *Natalie*)

Lezcano Escobar, Romina Nathalia*; Cubilla Ríos, Alberto Anastacio*; Flores Giubi, María Eugenia*; Barúa Chamorro, Javier Enrique*

*Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Biológica, Ruta Mcal. Estigarribia km 11, Campus de la UNA, San Lorenzo, Paraguay.

javierbarua@qui.una.py

RESUMEN

El pimiento es un fruto hortícola de producción mundial y es de fácil cultivo, siendo una alternativa para la generación de ingresos a medianos y pequeños productores; estos cultivos se ven afectados por microorganismos patógenos, entre ellos, los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* que causan la pudrición de raíz y la podredumbre blanca, respectivamente. De tal manera a combatir éstos fitopatógenos se utilizan productos químicos que podrían ocasionar daños al medio ambiente y a la salud de la población. Como alternativa, los hongos del género *Trichoderma* spp. son utilizados como agentes de control biológico, especialmente frente a estos fitopatógenos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la producción de metabolitos por 8 aislados nativos paraguayos de *Trichoderma* spp. y su actividad antifúngica de frente a *Rhizoctonia solani* (FCQ35) y *Sclerotinia sclerotiorum* (FCQ40), aislados de pimiento. Los resultados obtenidos indicaron que el extracto orgánico obtenido de *Trichoderma* sp. FCQ14 presentó un porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) del 100% contra ambos fitopatógenos. El extracto orgánico de *Trichoderma* sp. FCQ42 resultó en un PIC de 100% contra *S. sclerotiorum* FCQ40. Se evaluó la producción de metabolitos secretados por *Trichoderma* spp. mediante CCD, UPLC-PDA y UPLC-MS/MS, en donde se identificó un compuesto mayoritario en el extracto FCQ14, cuyo espectro de masa corresponde a la micotoxina trichodermina.

Palabras Clave: *Trichoderma*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, biocontrol.

PRODUCCIÓN DE METABOLITOS POR AISLADOS NATIVOS DE *Trichoderma* spp. Y SU ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA FRENTE A *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*, PATÓGENOS DEL PIMIENTO (*Capsicum annuum* var. *Natalie*)

Lezcano Escobar, Romina Nathalia*; Cubilla Ríos, Alberto Anastacio*; Flores Giubi, María Eugenia*; Barúa Chamorro, Javier Enrique*

*Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Biológica, Ruta Mcal. Estigarribia km 11, Campus de la UNA, San Lorenzo, Paraguay.

javierbarua@qui.una.py

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de pimiento se ve amenazado por el ataque de fitopatógenos entre ellos *Rhizoctonia solani* y la *Sclerotinia sclerotiorum* que causa pudrición de raíz (Cedeño, 2008) y la podredumbre blanca respectivamente (Remesal, Jordán, Jiménez, Navas, 2012). Las estrategias empleadas para minimizar la incidencia y la gravedad de enfermedades con el enfoque del Manejo Integrado de Plagas (MIP) son el uso de cultivares resistentes y la aplicación de productos químicos (Grosch, et al., 2012).

La utilización de productos químicos puede resultar eficiente para combatir estos fitopatógenos; sin embargo, el uso indiscriminado de los mismos resulta en contaminación ambiental y de los propios alimentos o productos agrícolas; debido a eso se ha incrementado la investigación en el uso de los métodos biológicos para controlar a los patógenos de los cultivos (Pérez, García, Camacho, Vázquez, 2012).

Los hongos del género *Trichoderma* poseen cualidades excelentes debido a su versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación, lo que ha permitido su utilización en el manejo de enfermedades de las plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo y no sólo se utiliza como controlador sino que también como un bioestimulante (Guédez, Cañizalez, Castillo, Olivar, 2012). Los hongos del género *Trichoderma* son capaces de actuar como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas (Mohammed, Pérez, Ahmed, Requena, Candela, 2004).

Universidad Nacional de Cuyo | Mendoza | Argentina 17, 18 y 19 de octubre de 2018

El género *Trichoderma* enfrenta a los patógenos fundamentalmente por medio de tres mecanismos: competencia directa por el espacio o por los nutrientes, fungistasis mediante la producción de metabolitos secundarios de naturaleza volátil o no volátil y parasitismo directo en las especies de hongos fitopatógenos (Mohammed et al., 2004) siendo estos dos hongos *R. solani* y *S. Sclerotiorum* susceptibles a estos mecanismos.

Se ha estudiado la posibilidad de utilizar *Trichoderma* en Paraguay para el control de patógenos de suelo de difícil control y manejo, donde los funguicidas químicos no tienen efecto debido a la complejidad del suelo. El Servicio Nacional de calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas (SENAVE) posee dos productos comerciales con registro, pero actualmente cancelados para su venta libre en el territorio nacional (Sanabria, Grabowski C, Cristhian, Grabowski O, 2016).

En el Departamento de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas se llevaron a cabo varios proyectos encaminados a la búsqueda de cepas nativas de *Trichoderma* eficientes en el control biológico. Se evaluó la capacidad antagónica de 25 aislados nativos paraguayos de *Trichoderma* spp. frente a cepas de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum* aislados del pimiento, mediante confrontaciones directas en cultivos duales. (Vera, Flores, Barúa, 2017).

No existen datos en Paraguay sobre la evaluación de moléculas producidas por especies de *Trichoderma* como antifúngicos para biocontrol de *R. solani* y *S. sclerotiorum*, por lo cual este trabajo pretende evaluar la producción de metabolitos por aislados nativos de *Trichoderma* spp. y su actividad biológica contra estos patógenos del pimiento.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la producción de metabolitos por aislados nativos de *Trichoderma* spp. y su actividad antifúngica frente a *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*, patógenos del pimiento (*Capsicum annuum* var. Natalie)

Objetivos específicos

- Evaluar la actividad antifúngica de los extractos orgánicos de los aislados de *Trichoderma* frente a los fitopatógenos *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*.
- Realizar el análisis químico de los extractos orgánicos de *Trichoderma* spp.
- Caracterizar metabolitos secretados por *Trichoderma* spp. con posible actividad antifúngica

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Microorganismos

Se utilizaron los hongos fitopatógenos *R. solani* (FCQ35) aislado de suelo rizosférico de cultivo de pimiento y *S. sclerotiorum* (FCQ40) aislado de tejido infectado del pimiento. Los hongos antagonistas se utilizaron ocho aislados nativos de *Trichoderma* spp.: FCQ13, FCQ14, FCQ16, FCQ19, FCQ23, FCQ28, FCQ32, FCQ42, obtenidos de diferentes puntos del país (Isaurralde, Velazquez, Verdina, Sotelo, Barúa, 2017)

3.2 Obtención de extractos orgánicos de *Trichoderma* spp.

Los discos de micelio de *Trichoderma* spp. fueron inoculados en placas Petri conteniendo medio de cultivo PDA, y se dejó crecer en una estufa microbiológica a 30°C y en oscuridad hasta que el micelio cubra totalmente la placa. De allí, se cortaron nuevos discos de micelio de *Trichoderma* spp. y se inocularon 3 discos en botellas Roux que contenían 200 mL de medio de cultivo PDB (Papa-Dextrosa-Caldo, Liofilchem®), y se dejó crecer durante 7 días en una estufa microbiológica a 30°C, en oscuridad y estático. Luego, se separó el micelio del medio de cultivo mediante filtración al vacío con gasa, en donde se descartó el micelio.

El filtrado fue extraído tres veces con acetato de etilo, en proporción filtrado: solvente orgánico (1:1/2, 1:1/2, 1:1/2). Las fracciones orgánicas obtenidas fueron secadas con sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄), filtradas con papel de filtro, y posteriormente se eliminó el disolvente mediante un evaporador rotatorio. Se registraron los pesos de los extractos orgánicos obtenidos y se almacenaron a -20 °C hasta su utilización.

3.3 Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos orgánicos de *Trichoderma* spp.

Para la evaluación de la actividad antifúngica se siguió la metodología utilizada por Vinale et al (2006), con modificaciones. Los extractos orgánicos crudos de *Trichoderma* spp. fueron disueltos en una solución acuosa al 5% de dimetil sulfóxido (DMSO), de tal manera a obtener una solución de concentración final de 20 µg/µL. Como control positivo se utilizó Tebuconazole

Universidad Nacional de Cuyo | Mendoza | Argentina 17, 18 y 19 de octubre de 2018
disuelto en solución acuosa de DMSO al 5%, agregándose 200 µg del antifúngico por placa. Como control negativo se utilizó 10 µL de solución acuosa de DMSO al 5%. Las placas se incubaron a 25°C durante 60 horas, o hasta que el Control negativo cubrió toda la placa, registrándose el diámetro de crecimiento miceliar cada doce horas. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

3.4 Evaluación del perfil cromatográfico de los extractos orgánicos de *Trichoderma* spp.

Para el análisis por Cromatografía en capa delgada (CCD) los extractos fueron resuspendidos en acetato de etilo y fueron cromatografiados utilizando cromatofolios de gel de sílice con indicador UV₂₅₄, y visualizadas bajo luz UV a 254 nm y 365 nm, y posteriormente se reveló con vainillina.

Los extractos orgánicos se disolvieron con acetonitrilo (ACN) y fueron analizados en un cromatógrafo líquido de alta eficacia (UPLC), marca Waters, modelo Acquity acoplado a detectores de arreglo de Diodos (Photo Diode Array, PDA) y un detector de masas en tándem (MS/MS). La columna C-18 utilizada fue de la marca Acquity, modelo BHE (1,7 micras y 3 cm x 2,1 mm). Las condiciones cromatográficas fueron: inyección automática de las muestras utilizándose como fase móvil una mezcla de agua (con 0,1% de ácido fórmico y 0,5% de amoniaco) y metanol en gradiente de concentración de 0 a 100% de metanol, con un tiempo de corrida de 10 min y flujo de 0,4mL/min. El software utilizado para el análisis cromatográfico fue MassLynx® para Windows.

3.5 Cálculo del porcentaje de inhibición del crecimiento

Para la evaluación de la actividad antifúngica se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de *S. sclerotiorum* y *R. solani* utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{PIC} = \left[\frac{C-T}{C} \right] \times 100$$

Donde, *C* es la medida del crecimiento del fitopatógeno en la placa control negativo, *T* es la medida del crecimiento del fitopatógeno en la placa del ensayo.

3.6 Análisis estadísticos

Para la interpretación de los resultados obtenidos de PIC de los fitopatógenos se realizó la prueba t-Student, considerando un nivel de confianza del 95% empleando el software GraphPrism®.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Obtención de extractos orgánicos de *Trichoderma* spp.

Ocho fueron los aislados de *Trichoderma* seleccionados para evaluar la actividad antifúngica utilizando los extractos fúngicos que se muestran en la **Tabla 4.1**, en donde el mayor rendimiento que se obtuvo fue de 396,7 mg/L del FCQ19.

Tabla 4.1: Rendimiento de los extractos orgánicos de *Trichoderma* spp.

Aislados de <i>Trichoderma</i>	Rendimiento (mg/L)
FCQ13	22,6
FCQ14	82,3
FCQ16	55,5
FCQ19	396,7
FCQ23	132,3
FCQ28	125,3
FCQ32	74,3
FCQ42	59,0

4.2 Evaluación cromatográfica preliminar de los extractos orgánicos de *Trichoderma* spp.

Los extractos orgánicos obtenidos a partir de los aislados de *Trichoderma* spp. fueron evaluados de manera preliminar por CCD a fin de determinar la presencia de compuestos químicos de polaridad media y baja, además de tener información respecto a la complejidad de metabolitos secretados que pudieron ser producidos por el hongo y extraídos.

La CCD de los extractos reveló la diversa composición química de los diferentes extractos de *Trichoderma* spp. de tal manera que permitió comparar y observar la presencia de varios metabolitos (**Fig. 4.1**)

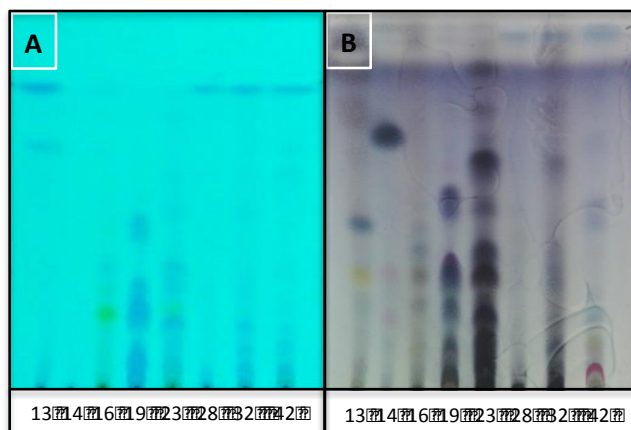


Figura 4.1 Cromatografía en capa delgada de los extractos orgánicos de *Trichoderma* spp. Fase estacionaria: gel de sílice 60 F₂₅₄; fase móvil: hexano-acetato de etilo (60:40). **A.** UV 254nm, **B.** revelador vainillina. Los carriles corresponden a los perfiles cromatográficos de los extractos de FCQ 13, FCQ14, FCQ16, FCQ19, FCQ23, FCQ28, FCQ32, FCQ42.

En la **Figura 4.1.A** se observó que bajo la luz UV de 254 nm FCQ16, FCQ19, FCQ23 y FCQ32, principalmente presentan varios metabolitos con cromóforos, en cambio los demás extractos presentan menor cantidad de manchas reveladas al UV incluso hasta casi estar ausentes como en FCQ14.

Al estudiar la CCF revelada con vainillina (**Fig. 4.1.B**) se pudo observar que FCQ14 presenta un compuesto mayoritario, en cambio FCQ23 presenta una elevada complejidad en el perfil de metabolitos secretados; FCQ42 mostró tener principalmente metabolitos de polaridad elevada.

4.3 Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos orgánicos de *Trichoderma* spp. contra *R. solani* y *S. sclerotiorum*

Se hizo el ensayo de actividad antifúngica de los extractos orgánicos de *Trichoderma* spp. frente a e *R. solani* (FCQ35) y *S. sclerotiorum* (FCQ40) evaluando el crecimiento de los fitopatógenos en presencia de los extractos orgánicos, para ello, se realizaron las mediciones para calcular el PIC que ejerce cada extracto de *Trichoderma*.

4.3.1 Ensayo de la actividad antifúngica de los extractos de los aislados de *Trichoderma* frente a *R. solani* (FCQ35)

Se colocó 200 µg de cada extracto orgánico de *Trichoderma* sobre los discos de micelio de *R. solani* FCQ35, por triplicado, y se incubó en oscuridad a 30°C de temperatura. Se midió el diámetro de crecimiento del micelio hasta que el control cubrió la totalidad de la placa, obteniéndose datos a las 12, 24, 36, y 48 hs. En la **Tabla 4.2** se muestra los valores de PIC obtenidos.

Tabla 4.2 Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) de *R. solani* (FCQ 35) confrontados a los extractos de los aislados de *Trichoderma* spp.

	12 hs.	24 hs.	36 hs.	48hs.
Tebuconazole	100,00±0,00	100,00±0,00	79,95±3,15	78,19±1,23
FCQ13	100,00±0,00	66,00±3,70	53,80±9,30	22,60±13,50
FCQ14	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00
FCQ16	35,80±3,30	41,50±6,60	26,50±10,90	20,50±14,20
FCQ19	37,70±5,70	29,80±8,40	21,60±8,60	15,30±9,50
FCQ23	100,00±0,00	41,30±8,63	11,05±3,02	8,42±6,18
FCQ28	100,00±0,00	16,30±3,77	3,49±7,05	4,95±0
FCQ32	100,00±0,00	100,00±0,00	68,41±3,50	54,74±2,41
FCQ42	100,00±0,00	63,30±6,77	37,65±22,25	46,32±15,63

Destaca el aislado FCQ14 que mostró una inhibición del 100% del crecimiento de FCQ35 durante todo el ensayo.

Se destacó una buena inhibición inicial de los demás extractos con excepción de FCQ16 y FCQ19 que presentaban un PIC menor al inicio del ensayo y que disminuyen con el tiempo. *R. solani* puede activar un mecanismo de degradación química por la producción de enzimas degradantes (Mayo, 2017), siendo capaz de resistir a los antibióticos secretados por los aislados de *Trichoderma*.

Universidad Nacional de Cuyo | Mendoza | Argentina 17, 18 y 19 de octubre de 2018
La **Figura 4.3** muestra imágenes representativas del ensayo de la actividad antifúngica entre el extracto obtenido de *Trichoderma* FCQ23 y *R. solani* FCQ35.

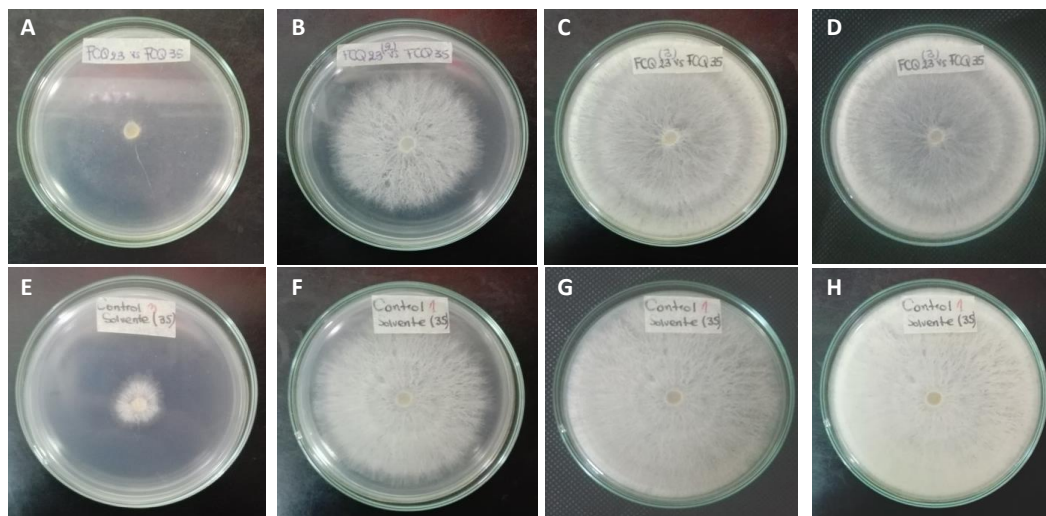


Figura 4.2 Imágenes representativas del ensayo de la actividad antifúngica del extracto orgánico FCQ23 contra *R. solani* FCQ35. Seguimiento del crecimiento a las 12 horas **A.** a las 24 horas **B.** a las 36 horas **C.** a las 48 horas **D.** **Abajo:** controles negativos correspondientes a cada tiempo de evaluación: 12 horas **E.** a las 24 horas **F.** a las 36 horas **G.** a las 48 horas **H.**

4.3.2 Ensayo de la actividad antifúngica contra *S. Sclerotiorum* FCQ40

De manera similar, se evaluó la actividad antifúngica de los extractos orgánicos de *Trichoderma* spp. frente a *S. sclerotiorum* (FCQ40) aislado de cultivos de pimiento.

Los resultados que se muestran en la **Tabla 4.3**, demostraron que los extractos orgánicos de los aislados de *Trichoderma* FCQ14 y FCQ42 inhibieron 100% el crecimiento del fitopatógeno, manteniéndose hasta las 48 horas, mientras que FCQ13, FCQ23 y FCQ28 mostraron un bajo porcentaje de inhibición. En contraste, FCQ16 presentó una actividad antifúngica moderada a baja durante todo el periodo de ensayo.

Tabla 4.3 Porcentaje de inhibición del crecimiento de *S. sclerotiorum* en presencia de los extractos orgánicos de *Trichoderma*

	12 hs.	24 hs.	36 hs.	48 hs.
Tebuconazole	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00
FCQ13	27,30±9,10	33,30±12,30	20,90±11,00	12,90±8,20
FCQ14	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00
FCQ16	45,50±48,10	33,30±26,50	8,80±38,20	8,26±5,84
FCQ19	100,00±0,00	46,00±33,80	39,20±10,20	32,80±9,10
FCQ23	18,20±0,00	2,38±3,37	3,30±1,55	0,83±0,00
FCQ28	0,00±0,00	4,76±0,00	3,30±2,20	1,65±1,17
FCQ32	100,00±0,00	47,62±4,76	37,00±3,36	28,93±4,37
FCQ42	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00

4.4 Comparación de la actividad antifúngica de los extractos de los aislados de *Trichoderma* respecto a ambos fitopatógenos

A excepción del extracto obtenido de *Trichoderma* FCQ14 (FCQ14) que presentó 100% de inhibición desde el inicio del experimento hasta las 48 horas de exposición, los demás extractos orgánicos de los aislados de *Trichoderma* mostraron ciertas diferencias en la actividad antifúngica contra los dos fitopatógenos empleados en este trabajo que deben ser destacadas. La Figura 4.3 recoge el análisis comparativo de la actividad antifúngica diferencial que presenta cada extracto orgánico con los dos fitopatógenos estudiados.

Se puede destacar que el extracto de FCQ16 presentó actividad antifúngica moderada a baja desde el inicio del experimento hasta las 48 horas de evaluación y que este comportamiento se observó contra ambos fitopatógenos por igual, es decir no existen diferencias significativas en el PIC de *R. solani* ni *S. sclerotiorum* (**Fig. 4.3B**).

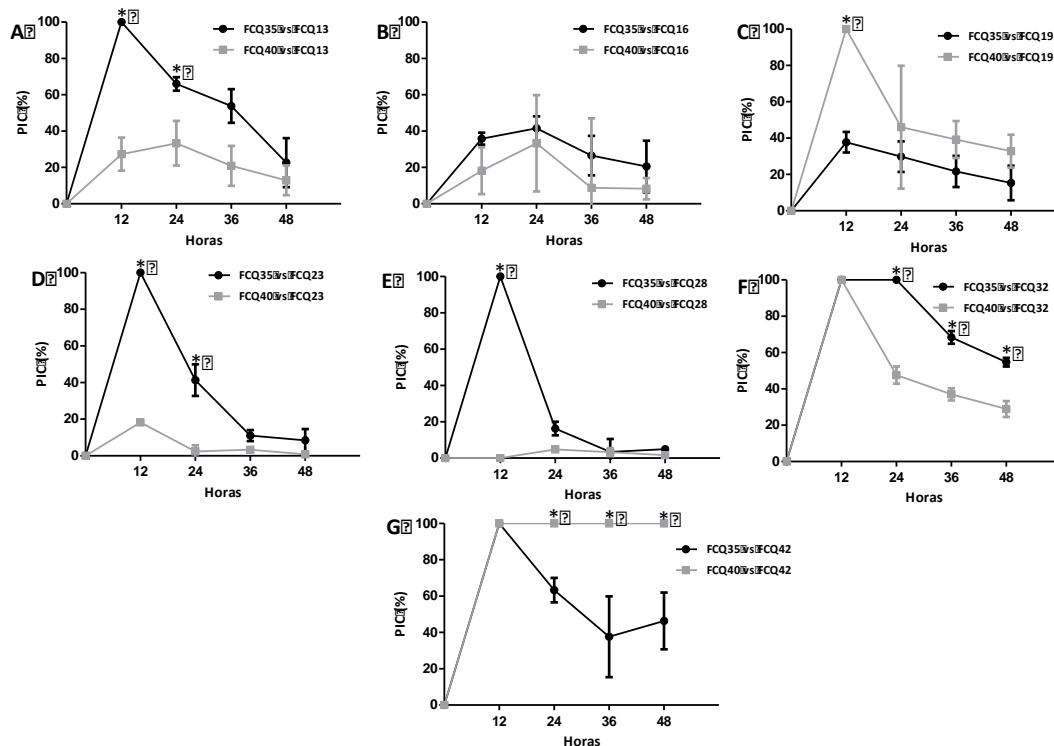


Figura 4.3 Porcentaje de inhibición de crecimiento de FCQ35 y FCQ40 ejercido por los extractos de los aislados de *Trichoderma* en el ensayo de actividad antifúngica: **A.** FCQ13 **B.** FCQ16 **C.** FCQ19 **D.** FCQ23 **E.** FCQ28 **F.** FCQ32 **G.** FCQ42. *diferencias significativas (t-Student, $p < 0.05$)

4.5 Evaluación de metabolitos presentes en los extractos orgánicos de *Trichoderma* spp. por técnicas de alta eficacia

Se analizaron los extractos más activos de *Trichoderma* spp: FCQ14, FCQ19, FCQ32 y FCQ42 mediante UPLC acoplado a detectores PDA y MS.

En el cromatograma que se observa en la **Figura 4.4** del extracto orgánico FCQ14 se destaca que en el tiempo de retención (tr) 3.00 min un compuesto mayoritario en cuyo espectro de

Universidad Nacional de Cuyo | Mendoza | Argentina 17, 18 y 19 de octubre de 2018
masas se detectan nitidamente las señales correspondientes a iones estables con m/z 293 ($C_{17}H_{25}O_4^+$) y m/z 315 ($C_{17}H_{24}O_4Na^+$) cuyas masas son coherentes, respectivamente, con los iones $[M+H]^+$ y $[M+Na]^+$ de la micotoxina trichodermina (Nielsen, Gräfenhan, Zafari, Thrane, 2005).

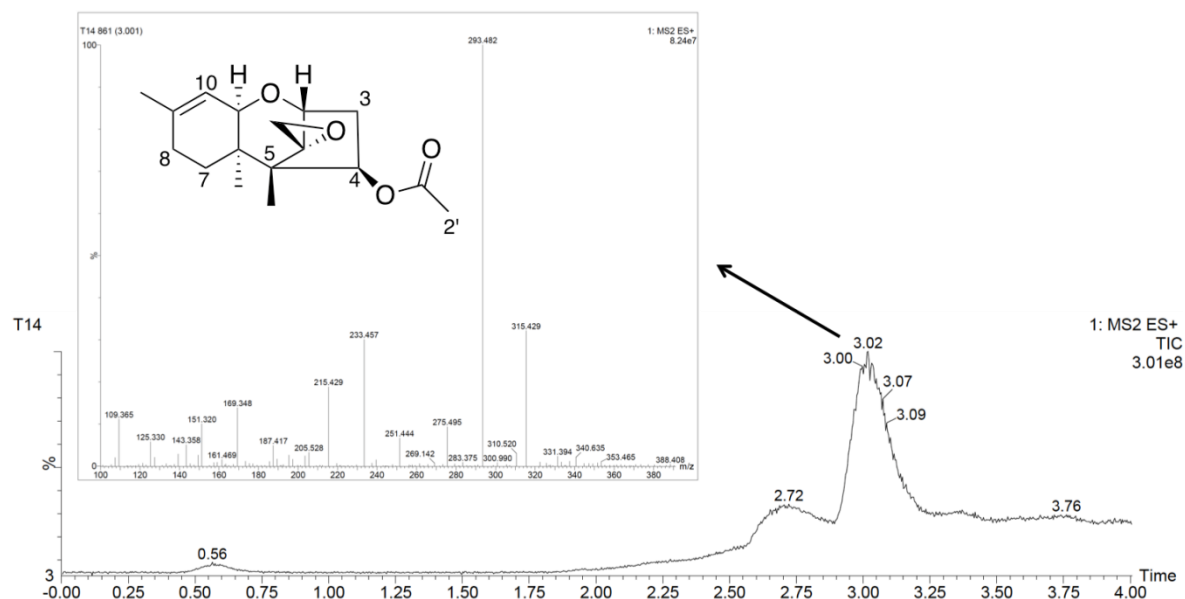


Figura 4.4: Cromatograma UPLC-MS-ESI⁺ del extracto orgánico de *Trichoderma* spp. FCQ14. Se muestra una expansión del espectro de masas del pico con tiempo de retención 3,00 min.

El análisis de los perfiles cromatográficos obtenidos de los extractos de los aislados de *Trichoderma* nativos indica que los diversos aislados poseen capacidad biosintética diferencial. Estas moléculas podrían estar implicadas en el proceso de antibiosis, las cuales deberán ser estudiados en trabajos posteriores.

El presente trabajo constituye la primera comunicación de la evaluación de la producción de moléculas con actividad antifúngica de *Trichoderma* aislada de suelo paraguayo y en donde se destaca el elevado potencial para el desarrollo de productos antifúngicos de menor impacto negativo sobre el ambiente.

5. CONCLUSIONES

Se obtuvieron los extractos orgánicos de los aislados nativos de *Trichoderma* spp. FCQ13, FCQ16, FCQ19, FCQ23, FCQ28, FCQ32, FCQ42, notándose entre ellos una complejidad química variable.

Se evaluó la actividad antifúngica de los ocho aislados de *Trichoderma* spp. contra dos aislados nativos de hongos fitopatógenos *R. solani* FCQ35 y *S. sclerotiorum* FCQ40. Se encontró que los aislados de *Trichoderma* poseen actividad inhibitoria sobre ambos hongos fitopatógenos, destacándose cinco de los aislados de *Trichoderma*, FCQ14, FCQ19, FCQ23, FCQ32, FCQ42, en donde FCQ14 presentó el 100% de inhibición para ambos fitopatógenos, FCQ19, FCQ23, FCQ32, FCQ42 mostraron una elevada actividad inicial (PIC= 100) de manera diferencial frente a ambos fitopatógenos. El extracto de FCQ42 mostró una actividad del 100% contra FCQ40.

Mediante la técnica de cromatografía líquida se pudo observar un compuesto mayoritario en el extracto FCQ14, cuyo espectro de masa correspondió a la trichodermina.

BIBLIOGRAFÍA

- Bell, D. Wells, H. y Markham, C. (1982) *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species six fungal plant pathogens. *Ecology and Epidemiology*.72 p. 379–82.
- Cedeño L. (2008) Easy and reliable method for nuclei staining of *Rhizoctonia* complex fungi. *Bioagro*,20(3):215–9.
- Guédez, C. Cañizalez, L. Castillo, C. Olivar, R.(2012) Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Rev la Soc Venez Microbiol*. 32(1):44–9.
- Grosch, R. Dealtry, S. Schreiter, S. Berg, G. Mendonça-Hagler, L. Smalla, K.(2012) Biocontrol of *Rhizoctonia solani*: complex interaction of biocontrol strains, pathogen and indigenous microbial community in the rhizosphere of lettuce shown by molecular methods. *Plant & Soil*, 361(1/2): 343.
- Insaurralde, B.; Velazquez Sanabria, A.; Verdina, D; Sotelo, P.; Barúa, J. (2017). Isolation and characterization of native *Trichoderma* spp. and phytopathogenic fungi in Paraguay. En libro de Resúmenes IV Congreso Nacional de Ciencias Agrarias (p.1071). San Lorenzo.
- Malmierca, M. Cardoza, R. Alexander, N. McCormick, S., Hermosa, R. Monte, E. Gutiérrez, S.(2012) Involvement of *Trichoderma trichothecenes* in the biocontrol activity and induction of plant defense-related genes. *Appl Environ Microbiol*.78 (14):4856–68.
- Mayo, S. (2017) Evaluación de *Trichoderma* spp. en el control biológico de *Rhizoctonia solani* y la respuesta defensiva en plantas de alubia pertenecientes a la IGP "Alubia La Bañeza-León"
- Mohammed, E. Pérez, C. Ahmed, S. Requena, M. Candela, M.(2004) *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, *Anales de Biología*. 26: 35-45.
- Nielsen, K. Gräfenhan, T. Zafari, D. Thrane, U.(2005) Trichothecene Production by *Trichoderma brevicompactum*. *J. Agric. Food Chem*. 53 (21), p 8190–8196

Universidad Nacional de Cuyo | Mendoza | Argentina 17, 18 y 19 de octubre de 2018
Pérez, E. García, C. Camacho, J. Vázquez, E. (2012) Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. Universidad Autónoma Indígena de México. 8 (3)

Remesal, E. Jordán, R. Jiménez-Díaz, R. Navas-Cortés, J. (2012) Mycelial compatibility groups and pathogenic diversity in *Sclerotium rolfsii* populations from sugar beet crops in Mediterranean-type climate regions. Plant Pathol. 61(4):739–53.

Sanabria, A. Grabowski, C. Cristhian, Y. Grabowski, J. (2016) Control biológico de Rosellinia sp. causante de la muerte súbita en macadamia (*Macadamia integrifolia*) con aislados de *Trichoderma* spp. InvestigAgrar .18 (2).

Vera Centurión, A.; Flores Giubi, M.; Barúa, J. (2017). Antagonistic capacity of native paraguayan isolates of *Trichoderma* spp. against capsicum pathogens (*Capsicum annuum* var Natalie): *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*. En libro de Resúmenes IV Congreso Nacional de Ciencias Agrarias (p.985). San Lorenzo.

Vinale, F. Marra, R. Scala, F. Ghisalberti, E. Lorito, M. (2006) Sivasithamparam K, Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens, Letters in Applied Microbiology.

FINANCIAMIENTO

El presente trabajo fue realizado en el marco del proyecto 14-INV-194 “**Identificación y caracterización químico-biológica de aislados de *Trichoderma* spp. de Paraguay**” financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), con el propósito de ampliar el conocimiento sobre la eficacia de aislados nativos de *Trichoderma* sp. para el control de fitopatógenos.